

Diss. ETH No. 10840

**COLD AND LIGHT INDUCED CHANGES IN COMPOSITION
OF PIGMENTS AND PHOTOSYNTHESIS IN
MAIZE (*Zea mays* L.) LEAVES**

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY
ZÜRICH
for the degree of
Doctor of Natural Sciences

presented by

PIERRE ANDRE HALDIMANN
dipl. ing. Agr. ETH Zürich (Switzerland)
born July 28, 1965
citizen of Bowil (BE)

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. P. Stamp, examiner
Prof. Dr. P. Matile, co-examiner

Zürich, 1994

SUMMARY

In temperate climates, depressions in the photosynthetic performance of maize leaves may be induced by cool weather conditions which persist for a prolonged period as well as by occurrences of short-term chilling. These depressions play a dominant role in limiting the vegetative growth of maize in spring. Leaf pigments play an important role for this chilling sensitivity. They are important components of the photosynthetic membranes; chlorophylls (Chls) are necessary for an efficient capture of light and carotenoids, besides their accessory role in light harvesting, are known to be important photoprotective agents and structural elements necessary for the assembly of functional photosystems. A combination of stress factors, such as chilling during the light period, which affects photosynthesis will generally also affect the pigments. Therefore, the effects of long-term low temperature during growth, and the effects of short-term chilling on the content and composition of leaf pigments, and on the photosynthetic performance of the leaves were investigated.

Maize seedlings of genotypes differing in tolerance to low temperature were grown in growth chambers at 24 or 14 °C and at a photon flux density of 600 or 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ until the full expansion of the third leaf. Leaves grown at 14 °C exhibited a strong reduction in the content of Chl a+b, a decrease in the Chl a/b ratio and an increase in the total carotenoids/Chl a+b ratio. Growth at 14 °C modified the composition of the carotenoids. The content of β -carotene decreased strongly, while the total content of the carotenoids of the xanthophyll cycle (violaxanthin (V) + antheraxanthin (A) + zeaxanthin (Z)) increased; neoxanthin and lutein were affected to a lesser extent. As a consequence, the xanthophylls/ β -carotene ratio increased strongly. Leaves grown at 14 °C accumulated large amounts of zeaxanthin and antheraxanthin, especially at high irradiance; only trace amounts of these carotenoids were present in leaves grown at 24 °C.

Genotypic differences in the content and composition of leaf pigments and in the photosynthetic performance were generally small at 24 °C. At 14 °C, particularly at high irradiance, cold-tolerant genotypes showed higher rates of CO_2 assimilation, were able to retain a higher content of pigments, accumulated lower amounts of zeaxanthin, exhibited a higher Chl a/b ratio and a lower xanthophylls/ β -carotene ratio as compared to cold-sensitive

genotypes. The portion of zeaxanthin relative to the total xanthophyll cycle pool (V+A+Z) was higher in cold-sensitive than in cold-tolerant genotypes, especially at high irradiance. When the temperature was increased from 14 to 24 °C for three days once the third leaf was fully developed, the content of pigments changed only slightly with the exception of the content of Chl *a* which increased and the content of zeaxanthin which decreased strongly due to its conversion to violaxanthin in the xanthophyll cycle. Violaxanthin was converted back to zeaxanthin when the temperature was set again at 14 °C. The cold-sensitive genotypes, starting with a lower photosynthetic performance than the cold-tolerant genotypes, were unable to compensate for this disadvantage during the warm period. During the warm period, the cold-sensitive genotypes also maintained a higher portion of the carotenoids of the xanthophyll cycle in the form of zeaxanthin as compared to cold-tolerant genotypes. Young, still expanding leaves were better able to benefit from the warm period to increase their photosynthetic performance than mature leaves.

The exposure of plants grown at 24 °C to a chilling stress of 10 °C for five days led to a depression in the photosynthetic performance of the leaves. Photoinhibition occurred during the stress as indicated by a decrease in the chlorophyll fluorescence parameter F_v/F_M . After the stress, F_v/F_M recovered faster than did the photosynthetic activity. The stress had only slight effects on the content of pigments with the exception of a large increase in the content of zeaxanthin due to the de-epoxidation of violaxanthin in the xanthophyll cycle. After the stress, zeaxanthin was quickly reconverted to violaxanthin. During the stress, the reduction in photosynthesis was more pronounced in a cold-sensitive than in a cold-tolerant genotype, and the epoxidation state (EPS) of the xanthophyll cycle pool was lower in the former than in the latter genotype. Exposure of the plants to various temperature and light stress conditions showed that EPS and F_v/F_M decreased with decreasing temperatures and/or increasing light intensities. At low temperature (6 °C) the kinetic of violaxanthin de-epoxidation was slow. Nevertheless, the leaves were able to accumulate large amounts of zeaxanthin. Although the leaves were strongly photoinhibited when the plants were exposed to a chilling stress of 6 °C at moderate light intensity ($500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) for three days, recovery from photoinhibition was fast. Genotypic differences in the susceptibility to low temperature-induced photoinhibition and in zeaxanthin formation were generally small for the stress conditions applied in these experiments. Measurements of chlorophyll fluorescence showed that processes of thermal dissipation of excitation energy are more important in

leaves grown at sub-optimal temperature than in leaves grown at near-optimal temperature. The xanthophyll cycle may be involved in this property. It is unlikely that differences in the functioning of the photosynthetic apparatus between leaves grown at sub-optimal temperature and leaves grown at near-optimal temperature accounted for the low photosynthetic performance of the former leaves. It is more likely that these differences are due to the inability of leaves grown at sub-optimal temperature to form an efficient photosynthetic apparatus. The low photosynthetic performance of the leaves grown at low temperature greatly reduces their advantage in coping with photoinhibition. In plants grown at sub-optimal temperature, cold-tolerant genotypes were distinct from cold-sensitive genotypes by a higher quantum yield of PSII electron transport (ϕ_{PSII}) at low temperature and low to moderate light intensities.

RESUME

Dans les zones climatiques tempérées, la photosynthèse des feuilles de maïs peut être réduite quand des températures fraîches persistent sur une longue période et quand de courtes périodes de froid surgissent brusquement. Cette réduction de la photosynthèse est un facteur important qui peut limiter la croissance végétative du maïs au printemps. Les pigments foliaires semblent jouer un rôle important au niveau de la sensibilité de la photosynthèse aux basses températures. Ils sont des composants essentiels des membranes photosynthétiques: les chlorophylles (Chls), d'une part, sont indispensables pour capter la lumière, et les caroténoïdes, d'autre part, au delà de leur fonction de pigments accessoires dans l'absorption de la lumière, sont connus pour être des agents photoprotecteurs essentiels et des éléments de structuration nécessaires à l'assemblage fonctionnel des photosystèmes. Une combinaison de facteurs de stress qui affecte la photosynthèse, comme par exemple des températures basses et une intensité lumineuse forte, exercera généralement également une influence sur les pigments. Le but de la présente étude a consisté à analyser comment, une période prolongée de basses températures pendant la croissance, ou de fortes et rapides baisses de température, peuvent influencer le contenu en pigments, leur composition, ainsi que la capacité photosynthétique des feuilles de maïs.

Des plantules de maïs de génotypes de tolérances au froid contrastées ont été cultivées dans des chambres climatiques à une température de 24 ou 14 °C et une intensité lumineuse de 600 ou 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ jusqu'au développement complet de la troisième feuille. Comparées avec les feuilles poussées à 24 °C, celles poussées à 14 °C ont présenté une forte réduction dans le contenu en Chl a+b, une diminution dans le rapport Chl a/b et une augmentation dans le rapport caroténoïdes/Chl a+b. Une croissance à 14 °C a modifié la composition des caroténoïdes. Le contenu en β -carotène a fortement baissé alors que le contenu en caroténoïdes du cycle des xanthophylles (violaxanthine (V) + anthéroxanthine (A) + zéaxanthine (Z)) a fortement augmenté; la néoxanthine et la lutéine n'ont été que faiblement influencées. En conséquence, le rapport xanthophylles/ β -carotène a fortement augmenté. Les feuilles poussées à 14 °C ont accumulé des quantités importantes de zéaxanthine et d'anthéroxanthine, particulièrement à forte intensité lumineuse; les feuilles poussées à 24 °C ne contenaient que des quantités infimes de ces caroténoïdes.

Les différences entre génotypes dans le contenu en pigments, la composition des pigments et la capacité photosynthétique ont été en général faibles à 24 °C. A 14 °C, comparés aux génotypes sensibles au froid, les génotypes tolérants ont présenté un taux d'assimilation du CO₂ plus élevé, ils ont été en mesure de maintenir un contenu en pigments plus grand, ils ont accumulé moins de zéaxanthine et avaient un rapport Chl a/b plus élevé et un rapport xanthophylles/ β -carotène plus bas, particulièrement à forte intensité lumineuse. La part de la zéaxanthine par rapport au total des caroténoïdes du cycle des xanthophylles (V+A+Z) a été plus importante dans les génotypes sensibles au froid que dans les génotypes tolérants, particulièrement à forte intensité lumineuse. Une élévation de la température de 14 à 24 °C pendant trois jours après que le stade de la troisième feuille ait été atteint n'a eu, en général, que peu d'effets sur les pigments, sauf que le contenu en Chl *a* a augmenté et que le contenu en zéaxanthine a fortement baissé, en raison de la conversion de la zéaxanthine en violaxanthine dans le cycle des xanthophylles. La violaxanthine a été reconvertie en zéaxanthine lorsque la température a été abaissée à 14 °C. Les génotypes sensibles au froid, qui avaient une capacité photosynthétique plus basse, comparée avec celle des génotypes tolérants, n'ont pas été en mesure de compenser ce désavantage durant la période à 24 °C. Pendant ce laps de temps, les génotypes sensibles au froid ont maintenu une part plus importante des caroténoïdes du cycle des xanthophylles sous forme de zéaxanthine. Les feuilles jeunes, en pleine croissance, ont été mieux à même de bénéficier de la période à 24 °C pour accroître leur capacité photosynthétique que les feuilles ayant atteint leur maturité.

Une exposition des plantes développées à 24 °C à un stress de froid de 10 °C pendant cinq jours a provoqué une forte réduction de la capacité photosynthétique des feuilles. De la photoinhibition a été induite par le stress comme l'a indiqué une forte baisse du rapport F_v/F_M de la fluorescence de la chlorophylle. Après le stress, le rapport F_v/F_M est rapidement remonté pour tendre vers des valeurs proches de celles mesurées avant le stress, alors que l'activité photosynthétique ne s'est rétablie que lentement. Le stress n'a eu, en général, que peu d'effets sur les pigments, mis à part la zéaxanthine dont le contenu a fortement augmenté en raison d'une dé-époxydation de la violaxanthine dans le cycle des xanthophylles. Après le stress, la zéaxanthine a été rapidement reconvertie en violaxanthine. Durant le stress, la réduction de la photosynthèse a été plus marquée pour un génotype sensible au froid que pour un génotype tolérant. L'état d'époxydation (EPS) des caroténoïdes du cycle des xanthophylles a été plus bas (la part de la zéaxanthine plus élevée) dans le génotype sensible

au froid que dans le génotype tolérant. L'exposition des plantes à différentes conditions de stress à la température et à la lumière a montré que EPS et F_v/F_M baissent avec une diminution de la température et/ou une augmentation de l'intensité lumineuse. A très basse température (6 °C), la vitesse de la dé-époxydation de la violaxanthine a été fortement ralentie. Cependant, les feuilles ont malgré tout été en mesure d'accumuler des quantités importantes de zéaxanthine. L'exposition des plantes à un stress au froid de 6 °C et une intensité lumineuse modérée ($500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) pendant trois jours a provoqué une forte photoinhibition de la photosynthèse. Cependant, le rétablissement a été rapide après le stress. Les différences entre génotypes, dans la susceptibilité de la photosynthèse à la photoinhibition et dans la formation de zéaxanthine au froid, ont été généralement faibles pour les conditions de stress appliquées dans les expériences. Des mesures de la fluorescence de la chlorophylle ont révélé que les processus non-photochimiques de dissipation de l'énergie sont plus importants dans les feuilles qui ont poussé à température suboptimale que dans celles développées à une température proche de l'optimum. Le cycle des xanthophylles pourrait jouer un rôle dans cette caractéristique. Il est peu probable qu'une différence de fonctionnement de l'appareil photosynthétique entre les deux types de feuilles soit responsable de la faible capacité photosynthétique observée chez les feuilles poussées à température suboptimale. Cette dernière est probablement à mettre sur le compte de l'incapacité des feuilles à développer un appareil photosynthétique efficace à basse température. La faible capacité photosynthétique des feuilles poussées à température suboptimale diminue considérablement l'avantage qu'elles ont de mieux résister à la photoinhibition. Dans les plantes développées à température suboptimale, les génotypes tolérants au froid se sont distingués des génotypes sensibles par un plus grand nombre d'électrons transportés par unité de photons absorbés par le PSII (ϕ_{PSII}) à très basses températures et à des intensités lumineuses faibles à modérées.