

高山植物美丽风毛菊PSII光化学效率和光合色素对短期增补UV-B辐射的响应

师生波^{1*} 尚艳霞^{1,2} 师瑞³ 张波^{1,2}

¹中国科学院西北高原生物研究所, 中国科学院高原生物适应与进化重点实验室, 西宁 810001; ²中国科学院研究生院, 北京 100049; ³中山大学生命科学学院, 广州 510275

摘要 在中国科学院海北高寒草甸生态系统实验站的综合观测场, 于植物生长季的不同月份进行短期增补UV-B辐射的模拟试验, 研究了高山植物美丽风毛菊(*Saussurea superba*)的PSII光化学效率、光合色素和UV-B吸收物质对增强UV-B辐射的响应。结果表明, 尽管差异不显著, 暗适应3 min的PSII最大光化学量子效率在不同月份均有降低的趋势, 说明增强UV-B辐射能加剧光合机构的光抑制。不同月份短期增补UV-B辐射均引起光下PSII实际光化学量子效率和光化学猝灭系数的降低, 以及非光化学猝灭系数的增高, 表明增强UV-B辐射能降低叶片的光能捕获效率, 促进非光化学能量耗散过程。增补UV-B辐射后, 叶片光合色素的含量略有降低趋势, 可能与短时间内光合色素形成过程受抑制和光氧化程度的加剧, 以及叶片厚度的略微降低有关。UV-B吸收物质的含量在不同月份没有一致和较为显著的变化, 说明高原强UV-B环境下生存的美丽风毛菊叶表皮层中由类黄酮和衍生多酚类组成的内部紫外屏蔽物质相对稳定, 倾向于较少受增补UV-B辐射的影响。

关键词 高山植物, 光合色素, PSII光化学效率, 青藏高原, 美丽风毛菊, UV-B吸收物质, UV-B辐射

Responses of PSII photochemistry efficiency and photosynthetic pigments of *Saussurea superba* to short-term UV-B-supplementation

SHI Sheng-Bo^{1*}, SHANG Yan-Xia^{1,2}, SHI Rui³, and ZHANG Bo^{1,2}

¹Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota, Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; ²Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; and ³School of Life Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, China

Abstract

Aims Native alpine plants that have grown and evolved on the Qinghai-Tibetan Plateau of China for a long time have developed a strong adaptation capacity for harsh environmental factors, such as low temperature, low air pressure, strong sunlight and solar UV-B radiation. The objective of this study was to determine the response of PSII photochemistry efficiency to short-term enhanced solar UV-B intensity in alpine plants. We examined whether UV-B-absorbing compounds were sufficiently efficient to protect the photosynthetic apparatus from UV-B photo-inactivation or photo-damage and evaluated the influence of UV-B radiation on photosynthetic pigments.

Methods Field experiments were conducted during the 2008 and 2009 growing seasons in alpine *Kobresia humilis* meadow near Haibei Alpine Meadow Ecosystem Research Station (37°29'–37°45' N, 101°12'–101°33' E; alt. 3 200 m) using the native alpine plant *Saussurea superba*. Short-term UV-B-supplementation studies were performed over 5 days using UV-B-313 fluorescence lamps, which were filtered with a cellulose diacetate film to get increased UV-B treatment and a Mylar film as a control. Pulse-modulated *in-vivo* chlorophyll fluorescence was used to obtain rapid information of UV-B on photosynthetic processes. The 3-min dark-adapted maximum quantum efficiency of PSII photochemistry, $F_{(v)}/F_{(m)}$, and PSII photochemistry efficiency were measured under natural sunlight. The contents of photosynthetic pigments and UV-B-absorbing compounds were analyzed based on leaf area unit.

Important findings Although there was no significant difference, $F_{(v)}/F_{(m)}$ showed a decreasing trend after short-term exposure to enhanced UV-B radiation in all measurements throughout the growing season. The reduction of the actual photochemical quantum efficiency and photochemical quenching as well as the increase of non-photochemical quenching in UV-B supplemented treatment, when compared to the control, indicated there

收稿日期Received: 2011-11-28 接受日期Accepted: 2012-03-21
* E-mail: sbshi@nwipb.cas.cn

was a decrease in PSII photochemistry efficiency and an increase in non-photochemical quenching. These phenomena indicated photo-inactivation or photo-damage of photosynthesis occurred in the PSII reaction center. The photosynthetic pigments showed a small decrease in the UV-B supplemented treatment, which may be related to the enhancement of photo-oxidation, a reduction of pigment synthesis and small variation of leaf thickness. The UV-B-absorbing compounds were not influenced by short-term enhancement of UV-B radiation when analyzed based on leaf area unit. This demonstrated that higher contents of UV-B-absorbing compounds in the epidermal layer of alpine plant *S. superba* were efficient for defense against UV-B radiation and stabilized for further enhancement of UV-B radiation

Key words alpine plant, photosynthetic pigment, PSII photochemistry efficiency, Qinghai-Tibetan Plateau, *Saussurea superba*, UV-B-absorbing compounds, UV-B radiation

平流层臭氧柱(total column ozone)的降低, 直接引起了穿透到近地表面紫外线B辐射(UV-B, 280–315 nm)强度的增加(Madronich *et al.*, 1999; McKenzie *et al.*, 2007)。尽管它增加的比例很小, 但UV-B波段在近地表面的太阳短波光谱中最具活性, 对人类健康, 动物、植物和微生物的生命过程, 以及天然和人工合成材料的使用寿命等具有深刻的影响(Björn, 1999)。高等植物作为陆地生态系统的初级生产者, 在太阳光能固定和物质转换过程中具有重要的作用。然而, 强太阳光和相伴随的太阳UV-B辐射始终塑造着植物的生命活动进程。研究表明, 即使是当前环境水平的UV-B辐射剂量, 也明显地影响着陆生高等植物的生理过程和发育进程(Sicora *et al.*, 2006; van Rensen *et al.*, 2007)。

高等植物具有多种途径改善和修复(ameliorate and repair)潜在的任何伤害效应, 能在一定程度上应付UV-B辐射的胁迫。大量的实验表明, 与起源于低海拔和高纬度地区的植物相比, 来自高山和低纬度地区的植物种和品种, 由于在生长发育的整个阶段始终都经历着自然强太阳UV-B辐射的驯化, 通常对人为增强的UV-B辐射不很敏感(van de Staaij *et al.*, 1995), 也就是说, 这些植物在长期的进化与适应过程中已形成了多种策略, 能减缓UV-B诱导的各种伤害。高等植物适应强UV-B胁迫的一个重要途径就是诱导形成能有效地屏障紫外波段辐射的一些化学物质, 称为UV-B吸收物质。这些主要存在于叶表皮层细胞中的紫外线屏蔽物质由类黄酮和衍生多酚类组成, 能有效地保护叶肉细胞和内部的光合机构, 使其避免UV-B光量子的伤害(Bornman, 1989; Jansen *et al.*, 1998)。除此以外, 高等植物也发

育了完整的修复和防御机制, 以适应自然光谱中的UV-B组分。其中, 修复机理包括受损DNA的切除和由光裂合酶(photolyase)催化的光活化调节修复, 以及紫外线敏感蛋白特别是光系统II反应中心(PSII) D1和D2蛋白亚基的体内合成(Britt, 1999; Bilger *et al.*, 2001); 防御机制包括酶和非酶抗氧化系统的加强(Jansen *et al.*, 1998; Costa *et al.*, 2002), 其中抗坏血酸、 α -生育酚、还原性谷胱甘肽以及类胡萝卜素都是非酶防御中能有效地解除氧化胁迫的分子响应。

师生波等(2010; 2011a)对高山植物美丽风毛菊(*Saussurea superba*)叶片的PSII光化学效率和光合色素含量等进行了分析, 发现草盛期15天增补UV-B的处理可导致光合机构的光胁迫驯化适应(light-stress acclimation); 并通过不同天气类型的归纳分析探讨了引起光适应叶片PSII实际光化学效率和光化学猝灭能力增加的诸多可能原因。显然, 草盛期美丽风毛菊植株光合能力的维系得益于叶片厚度等多种有利因素, 但增补UV-B辐射对光合生理过程的潜在负效应依然存在, 叶片净光合速率的变化取决于包括光抑制和光形态适应在内的一系列正、负影响的平衡。为了尽可能排除增补UV-B辐射后叶片厚度等光形态结构变化引起的补偿效果, 确定UV-B辐射的生理学效应, 本文特以2008年植物生长季内不同月份的美丽风毛菊植株为材料, 分析了PSII光化学效率、光合色素和UV-B吸收物质的变化, 探讨光合机构对增强UV-B辐射的应激响应和适应方式。这将有助于了解高山植物的UV-B适应机理, 以便确定影响高原植物生长及质量形成的UV-B辐射阈值。

1 材料和方法

1.1 试验样地及植物材料

试验样地设在中国科学院海北高寒草甸生态系统实验站(简称海北站)的综合观测场。该地区位于青藏高原的东北隅,地处祁连山东段北支冷龙岭南麓,大通河河谷的西北部, $37^{\circ}29'–37^{\circ}45' N$ 、 $101^{\circ}12'–101^{\circ}33' E$ 。试验站地区以山间滩地和丘陵低山为主,滩地海拔3 200 m。受高原大陆性气候及高海拔的影响,无明显四季之分,仅有冷暖季之别;暖季凉爽而湿润,冷季漫长寒冷。海北站地区年平均气温 $-1.7^{\circ}C$,极端最高气温 $27.6^{\circ}C$,极端最低气温 $-37.1^{\circ}C$;年内无绝对无霜期,相对无霜期仅20天左右,植物生长期约135天。年降水量426–860 mm,主要集中在植物生长季的暖季5–9月,占全年降水量的80%。站区土壤类型为高寒草甸土,土层深度60 cm左右,母质为黄土,其下为洪冲积物。

高寒矮嵩草(*Kobresia humilis*)草甸为该地区主要的草地类型,由多年生草本植物组成,建群种和优势种为矮嵩草。美丽风毛菊为主要的伴随种之一,属阔叶性多年生杂类草。该种主要分布在西藏、青海和甘肃等海拔1 920–2 800 m的地区,为我国特有植物,具有较强的抗低温和强太阳光辐射的能力。

1.2 增补UV-B辐射的试验处理

短期增补UV-B辐射的模拟试验主要参照Flint等(2003)的方法。在综合观测场内电力方便且植被较均匀的地段,选择株型相近、叶片数目基本相同的美丽风毛菊6株,每相邻两个植株为一组,分别安置增补和对照框架,共设3个重复处理组。处理框架安放在选定植株的正上方上,东西方向排列并固定。2008年生长季内的增补试验除8月份外,其余均在月初进行;2009年重复了部分试验内容。处理天数为5天,处理时间在8:30–17:30,根据天气晴阴等略有调节。

模拟增补UV-B辐射的可移动框架采用三角铝材制作,框架高35 cm,固定灯架的上部支架为正方形设计,边长30 cm。4个灯管支架安放在正方形框架下部,首尾相连,其上安装8 W的UV-B荧光灯管(UVB-308,北京电光源研究所)。增补框架的荧光灯管包一层纤维素双乙酸盐的薄膜(CA膜,厚度为0.13 mm),能隔除与生态不相关的少量致死性紫外线C (UV-C, $<280\text{ nm}$)成分,透过UV-B辐射,用Enhanced UV-B表示;对照框架采用Mylar薄膜(厚

度为0.13 mm)包裹荧光灯管,以完全滤除灯管发射的UV-B和少量的UV-C辐射,用Ambient UV-B表示。两种选择性薄膜均可透过紫外线A (UV-A, 315–400 nm)辐射。

2009年7月14日北京时间12:00左右的测定结果表明,全晴天两处理架下的实测光合有效辐射(PAR)、大气相对湿度(RH)、气温(T_{air})均无差异,UV-B辐射强度不具有显著差异(表1)。PAR采用LI-188 B量子辐射计(LI-COR, Lincoln, USA)测定,UV-B和UV-A用Macam UV 203 A+B紫外辐射计(Photometrics, Livingston, UK)测定,RH和 T_{air} 用国产WHM1型(天津气象海洋仪器厂)温湿度仪测定。根据Björn和Teramura (1993)模型计算UV-B生物有效辐射(UV-B_{BE}),两处理架下的UV-B_{BE}分别为947和 $1.98\text{ J}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ 。

为避免UV-B-308荧光灯管在使用过程中发生光强和光质的较大改变,每只灯管的田间使用寿命确定为15天,约100 h,即每3次处理后更换灯管;同时每次试验启用新的CA膜和Mylar膜,以保证膜透过率的稳定。

1.3 测定项目和方法

1.3.1 叶绿素荧光参数的测定

叶绿素荧光参数采用FMS-2便携式脉冲调制荧光仪(Hansatech Instruments LTD., Norfolk, UK)测定。美丽风毛菊植株的茎极短,基生叶呈莲座状排列。5月份植株刚从地面长出,叶片小,且未能充分展开,故荧光参数测定时选其较大叶片的中上部避开主脉测定。草盛期后于每一框架下选择并标记完全展开的健康叶片3–4片,避开主脉,在叶片中部选左或右部分测定。

自然光背景下以30 s间隔连续测定3次稳态荧光产率 F_s 和最大荧光产率 F_m' ,随后立即用自制的暗适应密封罩遮盖开口式荧光探头固定架,准确暗适应3 min,测定电子传递链基本还原后的最小荧光产率 $F_{(0)}$ 和电子受体体完全氧化后的最大荧光产率 $F_{(m)}$ 。暗适应3 min的PSII最大光化学量子效率以 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 表示(师生波等, 2011b; 2011c),反映非光化学猝灭的快相组分完全恢复后开放PSII反应中心的能量捕获效率(Quick & Stiff, 1989)。另选自然生长且无任何处理的美丽风毛菊叶片数枚,下午太阳即将落山前用暗适应夹遮光,充分暗适应4–5 h,于天黑后测定光合机构全部PSII反应中心都开放的初始

表1 短期增补UV-B辐射试验处理架下主要环境因子的变化(2009年7月14日)(平均值±标准误差, $n = 15; \alpha = 0.05$)

Table 1 Changes of main environmental factors in short-term UV-B-supplementation experiments in July 14, 2009 (mean ± SE, $n = 15; \alpha = 0.05$)

	增补UV-B辐射 Enhanced UV-B	背景UV-B辐射 Ambient UV-B	差异显著性 Significance
光合有效辐射 PAR ($\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	1 842 ± 33	1 825 ± 32	0.720 6
相对湿度 Relative humidity (%)	70.98 ± 0.20	71.07 ± 0.16	0.740 1
气温 Air temperature (°C)	20.43 ± 0.15	20.44 ± 0.11	0.971 1
UV-B ($\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$)	4.40 ± 0.06	4.28 ± 0.05	0.061 0
UV-A ($\text{mW}\cdot\text{m}^{-2}$)	23.54 ± 0.14	22.12 ± 0.06	0

PAR, photosynthetically active radiation

荧光强度 F_0 和PSII反应中心都关闭时的最大荧光强度 F_m 。测定荧光强度 F_m 、 $F_{(m)}$ 和 F_m' 的饱和脉冲光强度均为8 000 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 脉冲时间为0.7 s。 F_0' 用Oxborough和Baker (1997)的经验公式计算, 即 $F_0' = F_0/(F_v/F_m - F_0/F_m')$ 。 F_0 和 F_m 以及 F_0' 用于以下叶绿素荧光参数的计算。

F_v'/F_m' 表示可见光下PSII开放陷阱的最大量子效率, 为光适应叶片的PSII有效光化学量子效率, 也称为光下PSII最大效率(Baker, 2008), 其中 $F_v' = F_m' - F_0'$ (Genty *et al.*, 1989)。 q_p 反映开放PSII反应中心的比例, 即 Q_A 的还原程度, 称为光化学猝灭系数, $q_p = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_0')$ 。 NPQ 表示叶绿素荧光的非光化学猝灭系数, $NPQ = F_m/F_m' - 1$ (Bilger & Björkman, 1990)。

1.3.2 叶绿素和类胡萝卜素含量的测定

5天的短期增补UV-B辐射试验结束后立即取样, 并在实验室进行定量和浸提处理。每一处理框架下取健康展开叶片数枚, 于不同叶片上避开主要叶脉用直径0.7 cm的打孔器取叶圆片10个, 混合均匀后分为两组。其一浸入10 mL丙酮和乙醇的混合提取液中, 盖紧样品瓶并密封, 避光低温浸提约10天至叶圆片无色(师生波等, 1999)。叶绿素和类胡萝卜素含量的测定与计算见朱广廉等(1990)的文献。

1.3.3 UV-B吸收物质含量的测定

取混合均匀的另一组叶圆片浸入10 mL 79%酸化甲醇的样品瓶中, 盖紧密封, 避光低温浸提约10天。结果以10 mL提取液中每单位面积叶片在280和310 nm的紫外吸收值表示: $\text{OD}_{280}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot 10\text{ mL}^{-1}$ 和 $\text{OD}_{310}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot 10\text{ mL}^{-1}$ (师生波等, 1999)。

1.3.4 单位叶比重的测定

每一处理框架下取成熟健康叶片数枚, 在不同

叶片上避开主要叶脉用直径0.7 cm的打孔器取叶圆片10枚, 立即用1/1000的电子天平称重, 结果以单位叶片面积的鲜重表示。

1.4 数据分析

数据用SPSS 11.0软件进行统计分析, 采用独立样本 t 检验法比较各处理间的差异显著性。Microsoft Excel软件作图, 数据以平均值表示, 垂直条表示标准误差(SE), 样本数见文中和图标记。“*”和“**”分别表示处理间显著($p < 0.05$)和极显著($p < 0.01$)差异。

本文以2008年矮嵩草草甸植物生长季节的测定数据分析讨论, 除8月份因降雨和停电等因素延期至中下旬外, 其余各月份的短期增补UV-B辐射试验都在每月月初进行。叶绿素荧光参数, 尤其是稳态PSII光化学效率参数计算时, 严格选用了试验期间的晴天或即使有云但无云层干扰时的成对测定数值。

2 结果和分析

2.1 短期增补UV-B辐射处理对美丽风毛菊叶片PSII光化学量子效率的影响

图1A表明, 从返青初期的5月份到渐入枯黄期的9月份, 尽管差异都不显著, 与对照Ambient UV-B相比, 增补UV-B处理时暗适应3 min的PSII最大光化学量子效率 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 均呈降低趋势(5到9月的 p 分别为0.455、0.915、0.549、0.219和0.625; n 分别为15、9、51、9和8), 其中6月份的测定结果几无差异。准确3 min暗适应后, Enhanced UV-B处理植株PSII反应中心的恢复能力略小于Ambient UV-B对照的, 表明UV-B辐射增强抑制了PSII反应中心原初电子受体 Q_A 的氧化速率, 加重了美丽风毛菊叶片光合机构的光抑制程度。

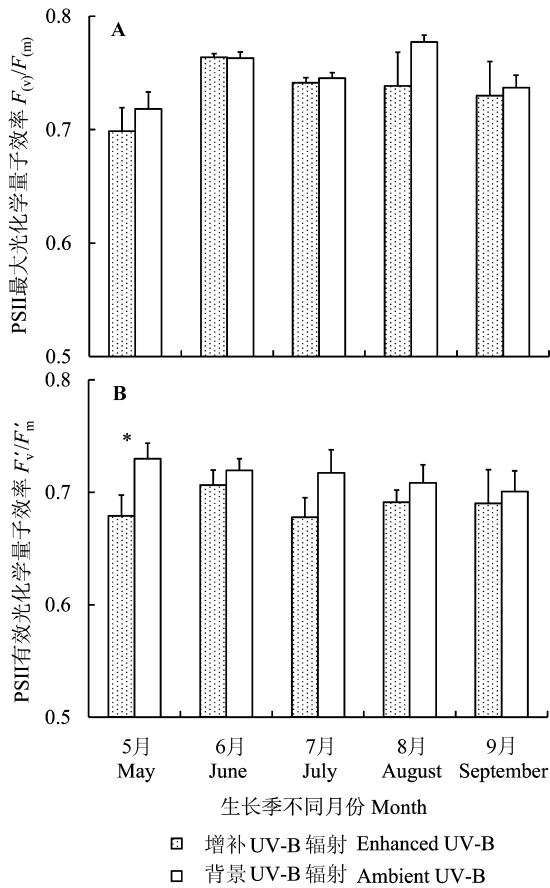


图1 2008年植物生长季不同月份增补UV-B辐射处理对美丽风毛菊叶片PSII最大光化学量子效率(F_v/F_m) (A)和PSII有效光化学量子效率(F_v'/F_m') (B)的影响(平均值±标准误差)。
Fig. 1 Effects of short-term UV-B-supplementation on 3-min dark adapted and light adapted maximum quantum efficiency of PSII photochemistry (F_v/F_m) (A) and (F_v'/F_m') (B) in *Saussurea superba* during plants growing season in 2008 (mean ± SE).

自然光背景下, PSII有效光化学量子效率 F_v'/F_m' 除返青初的5月份有较显著差异外($p < 0.05$), 其余各月Ambient UV-B对照和Enhanced UV-B处理间的差异均不显著(图1B); 与暗适应叶片的 F_v/F_m 相比, 增补UV-B处理时光适应叶片 F_v'/F_m' 的降低较为明显(5-9月的 p 分别为0.037、0.459、0.156、0.393和0.897; n 分别为15、9、9、9和5)。说明自然光背景下增补UV-B辐射可加剧对开放PSII反应中心激发能捕获效率的限制。

2.2 短期增补UV-B辐射处理对美丽风毛菊叶片光化学和非光化学猝灭的影响

稳定太阳光背景下, 短期增补UV-B辐射强度后美丽风毛菊叶片的光化学猝灭系数 q_p 除8月份外,

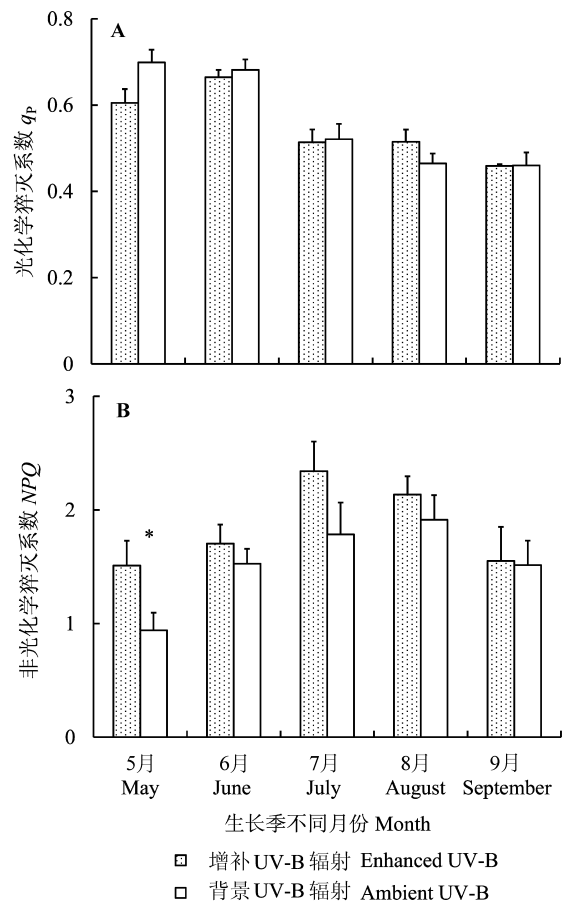


图2 2008年植物生长季不同月份短期增补UV-B辐射处理对美丽风毛菊叶片光化学(A)和非光化学猝灭系数(B)的影响(平均值±标准误差)。
Fig. 2 Effects of short-term UV-B supplementation on photochemical and non-photochemical quenching (q_p) (A) and (NPQ) (B) in *Saussurea superba* during plants growing season in 2008 (mean ± SE).

都略呈降低趋势(图2A); 非光化学猝灭系数NPQ则呈升高趋势, 其中5月份的测定值呈显著差异($p < 0.05$) (图2B)。说明UV-B辐射增强能影响激发能的分配份额, 导致PSII光化学猝灭的降低和热耗散能力的增加。

q_p 除5月份外, 从6月份起在生长季节内呈降低的趋势; NPQ值在7、8月份较高, 返青初期和渐入枯黄期时都较低。显然, 不同月份间稳态叶绿素荧光参数的差异除与叶片发育状况有关外, 还受测定时环境条件(如气温、光照等)的影响。

2.3 短期增补UV-B辐射处理对美丽风毛菊叶片光合色素的影响

生长季短期增补UV-B后, 美丽风毛菊叶片总

叶绿素(Chl a+b)和类胡萝卜素(Car)的含量除9月份几无差异外,其余4个月的测定都表明,短期UV-B辐射增强可引起Chl a+b和Car含量的降低,其中5月份Ambient UV-B和Enhanced UV-B两处理间的差异显著($p < 0.05$)。类胡萝卜素与叶绿素含量的比值Car/Chl除7月份($p = 0.0373$)和8月份($p = 0.2197$)有较大的增加外,其余3个月均无差异(图3C)。叶绿素a和叶绿素b的比值(Chl a/b)除5月份的降低较明显外($p = 0.1237$),其余各月的降低趋势均不明显(图3D)。

不同月份间的比较表明,返青初期叶片光合色素的含量较低,Car/Chl和Chl a/b的值也较低,似乎与此时美丽风毛菊植株叶片刚展开,光合色素尚处于合成阶段有关;另外,光合色素含量和PSII光化学效率也易受增补UV-B辐射的干扰。

2.4 短期增补UV-B辐射处理对美丽风毛菊叶片UV-B吸收物质含量的影响

鉴于紫外扫描曲线不便于不同月份间的比较,本文采用280和310 nm两处紫外吸光值进行了分析。结果表明,短期增补UV-B辐射后,美丽风毛菊叶片中UV-B吸收物质的含量没有明显变化;不同月份间的UV-B吸收物质除9月份略低外,其余4个月的测定都较稳定,说明其含量在植物生长发育的过程中受外界环境因素的影响较小(图4)。

2.5 短期增补UV-B辐射处理对美丽风毛菊叶比重的影响

生长季不同月份的测定表明,除9月份外,与Ambient UV-B对照相比,增补UV-B处理后单位叶比重均略有降低趋势(图5)。叶比重的降低意味着短时间内UV-B辐射强度的增加能引起美丽风毛菊叶

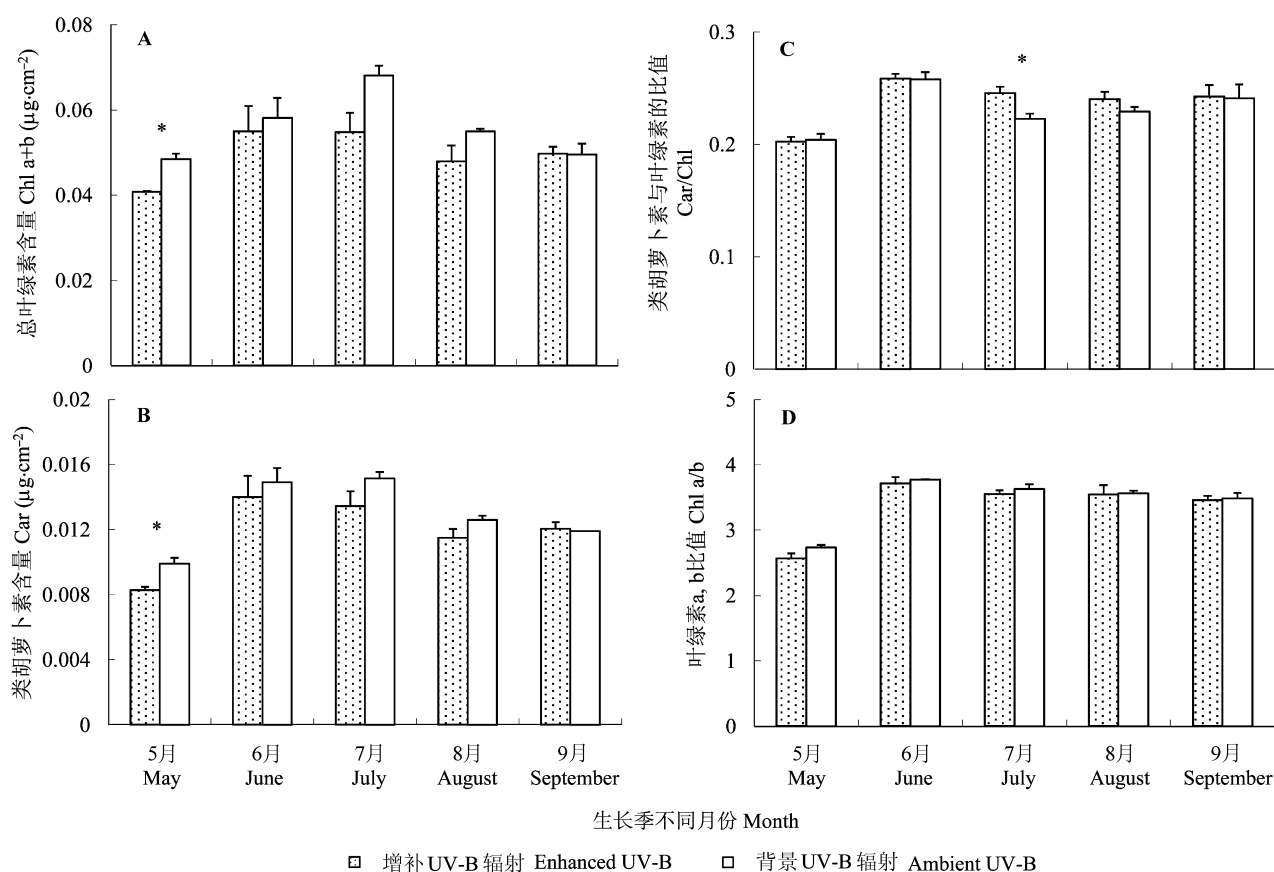


图3 2008年植物生长季不同月份短期增补UV-B辐射处理对美丽风毛菊叶片光合色素的影响(平均值±标准误差, $n = 6$)。*, 处理间差异显著($p < 0.05$)。

Fig. 3 Effects of short-term UV-B supplementation on photosynthetic pigment contents in *Saussurea superba* measured in different months during the plant growing season in 2008 (mean ± SE, $n = 6$). Car, carotenoid; Chl, chlorophyll. *, Significant difference between the treatments ($p < 0.05$).

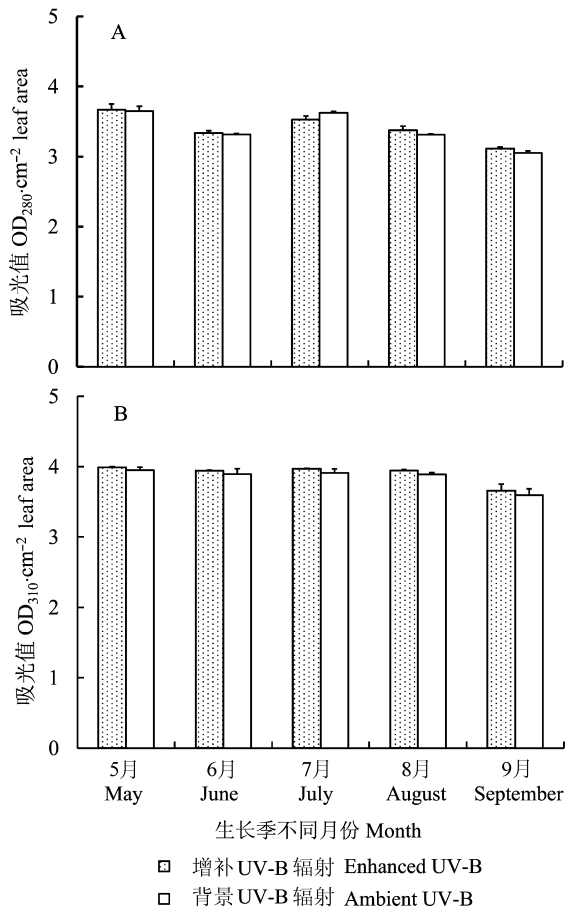


图4 2008年植物生长季不同月份短期UV-B辐射处理对美丽风毛菊叶片中UV-B吸收物质的影响(平均值±标准误差, $n = 6$)。
Fig. 4 Influence of short-term UV-B radiation on UV-B-absorbing compounds in *Saussurea superba* in different months during plant growing season in 2008 (mean ± SE, $n = 6$).

片厚度变薄。返青期的5月份,叶比重较大,可能与生长初期叶表面未能完全舒展存在较多皱褶有关。

3 讨论

采用选择性薄膜和UV-B荧光灯管的组合是野外模拟增强UV-B试验的主要途径(Flint *et al.*, 2003; Paul & Gwynn-Jones, 2003), 由于具有自然背景光的优势, 在研究平流层臭氧耗损导致的近地表面太阳UV-B辐射增强对植物及生态系统的影响, 和评价全球环境变化中UV-B的生物学和生态学效应等方面具有重要意义(Björn, 1999; Lau *et al.*, 2006)。长期增补UV-B辐射能引起高山植物麻花苣(*Gentiana straminea*)和美丽风毛菊叶片厚度的显著增加, 在

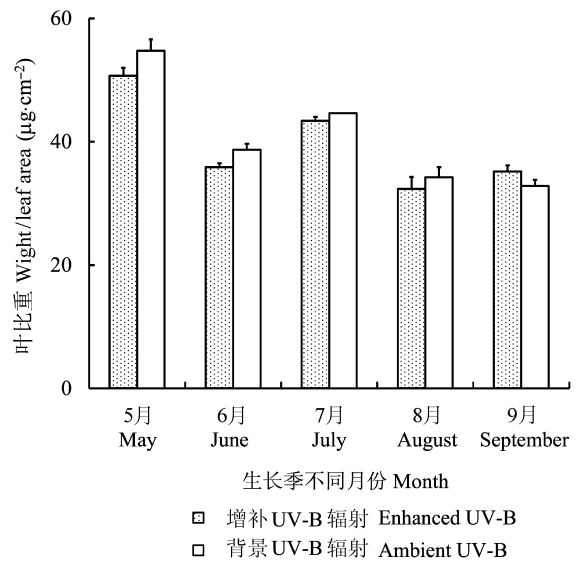


图5 2008年植物生长季不同月份短期UV-B辐射处理对美丽风毛菊叶比重的影响(平均值±标准误差, $n = 6$)。
Fig. 5 Influence of short-term UV-B radiation on leaf weight ratio in *Saussurea superba* in different months during plant growing season in 2008 (mean ± SE, $n = 6$).

一定程度上可补偿增强UV-B辐射后光合色素的光破坏, 因此以单位叶片面积表示的净光合速率和光合放氧速率没有发生降低现象, 相反有所提高(Shi *et al.*, 2004)。显然, 高山植物叶片光形态结构的变化在一定程度上掩盖了UV-B光量子伤害光合机构的事实。本文采用小型可移动的增补UV-B辐射装置, 在矮嵩草草甸植物的生长季内以美丽风毛菊为材料开展了短期模拟增强试验, 目的在于最低程度地减弱叶片厚度的变化对生物学效应的修饰, 研究高山植物光合机构对增强UV-B辐射的响应。不同月份的短期增补试验仅持续5天, 每天照光时间5–8 h不等。在如此短暂的处理时间内叶片厚度一般不会有明显的变化, 也不可能产生较大的UV-B辐射效应的积累, 因此叶片光合生理的变化可真实地反映光合机构对增强UV-B辐射的快速响应。

与传统的气体交换测定相比, 叶绿素荧光分析所反映的叶片量子效率、光合能力等都源于间接的测定(张守仁, 1999; 许大全, 2002; Baker, 2008)。鉴于青藏高原草甸植物的特性, 常用的便携式光合测定仪器很难使用于低矮植株和狭小叶片, 即使是草盛期的美丽风毛菊、麻花苣等阔叶植物也难以满足光合测定叶室的需求。叶绿素荧光探头需测定的叶片面积很小, 使用的暗适应夹也较小, 一般不受植

株低矮的影响。即便如此,对于高寒矮嵩草草甸的优势种矮嵩草,以及次优势种如羊茅(*Festuca ovina*)、异针茅(*Stipa grandis*)等禾草,依然面临着叶片过于细小的问题。本试验的另一目的就是通过阔叶植物光合特性的研究,建立一种适宜的手段来探测矮嵩草草甸绝大多数高山植物的UV-B响应特性。

光合机构是UV-B辐射的敏感部位,UV-B增强可导致PSII反应中心受损,进而影响植物的光合生理过程(Bornman, 1989; van Rensen *et al.*, 2007)。野外UV-B试验能较真实地预演自然环境的可能变化趋势(Caldwell & Flint, 1994; Paul & Gwynn-Jones, 2003),但光强、温度等环境因子的变化很快,加之可能受日变化生理节律的影响,因此准确、敏捷地追踪植物的生理响应尤为关键。与以前的研究(师生波等, 2011a; 2011b; 2011c)相同,准确暗适应3 min后PSII光化学量子效率 F_v/F_m 的差异可作为探测光合机构中PSII反应中心相对受抑制程度的快速无损手段(Galvez-Valdivieso *et al.*, 2009)。短时间3 min的暗适应能保证依赖类囊体膜内外质子浓度差而产生的非光化学猝灭快相组分的完全恢复,其差异主要来自光合作用光抑制的慢相组分以及状态转换的中间相组分的变化(Quick & Stitt, 1989)。图1表明,尽管能检测到的差异程度小且无统计学上的显著性,生长季不同月份的短期增补UV-B辐射处理均引起了美丽风毛菊叶片 F_v/F_m 的降低,说明UV-B辐射加剧了光合机构的光抑制程度,对光合机构的功能具有潜在的损害作用。

5月份是矮嵩草草甸植物群落的返青初期,美丽风毛菊植株刚从地面长出,叶片尚未完全舒展,数目少且小,可用于试验的叶片相对幼嫩,此时叶片光合色素含量显著低于其他月份,可见光背景下 F_v/F_m 以及 q_p 和 NPQ 也明显受增补UV-B辐射的影响,说明返青初期的美丽风毛菊对UV-B辐射较为敏感,很可能与此时植株幼小、叶片中修复和防御系统不够完善有关。7、8月份为草甸植物群落的草盛期,此时美丽风毛菊植株已经基本长成,单株叶片数目较多,且成熟叶片较大,相比于其他月份的结果, q_p 较低而 NPQ 较高,反映了成熟叶片的光合响应特性,当然也与这一时期太阳光较强以及自然光谱中UV-B辐射所占比例较高有关。短期增补UV-B处理后美丽风毛菊叶片的光合色素含量一般较Ambient UV-B对照的低(图3A、3B),说明突然增

强的UV-B辐射能加剧光合色素的光氧化过程或抑制其合成过程的某些步骤(Lizana *et al.*, 2009),引起光合色素合成与代谢的失衡,进而导致其含量的降低。尽管差异都不显著,Enhanced UV-B处理均引起了PSII最大效率 F_v/F_m '的降低,以及 NPQ 的升高,显然可见光背景下光合机构的光化学活性和非光化学猝灭过程受UV-B光量子的影响,UV-B辐射增强对高原土著植物美丽风毛菊的光合作用具有潜在的负影响。9月份,试验站地区霜冻已经较为频繁和严重,美丽风毛菊叶片易受伤害且叶缘及叶尖常有褐斑等出现,此时能选作测定和取样的叶片显然较为成熟和健壮,对环境胁迫的抗性也较高,因此短期增强UV-B辐射时单位叶面积光合色素的含量几无变化,PSII反应中心的受抑程度也小。毋庸置疑,UV-B诱导的PSII反应中心失活是短暂的,而且在自然条件下几乎难以察觉(Allen *et al.*, 1998; Joshi *et al.*, 2007),不同月份稳态PSII光化学效率对短期增补UV-B辐射敏感性的差异不仅与叶片发育状况有关,也与环境因子如温度、光照及太阳光谱成分的变化有关,同时生长季内随叶片逐渐成熟各种修复和防御机制也趋于完善,在抵御强UV-B辐射等胁迫因子中发挥着重要作用。

Car的最大吸收峰在蓝紫光部分,能吸收蓝紫光的光能并传递给作用中心的Chl a分子;同时Car还能清除活性氧,保护细胞膜系统免于强光辐射的伤害作用(Middleton & Teramura, 1993)。然而,增补UV-B辐射处理时,Car/Chl在不同月份的响应不尽相同,除7月份的测定有显著差异外,其余各月差异不明显且变化相异,显然Car和Chl之间相对敏感性的问题依然不能确定。Chl a/b尽管几无差异,但在各月均具有相同的变化趋势,很可能UV-B辐射具有降低Chl a/b值的作用,这与不同物候期小麦的UV-B试验结果一致(Lizana *et al.*, 2009),Chl a/b值的降低可能与光捕获复合系统(LHC)对PSII和PSI核复合体相对数量的增加有关(Šprtová *et al.*, 2003)。

不同于草盛期15天的增补UV-B辐射试验,生长季不同月份5天的短期增补UV-B均引起了叶片厚度的略微减小(图5),可能与植物未能很快适应突然增强的UV-B辐射有关。但高山植物具有较强的光胁迫驯化(light-stress acclimation)能力,在15天的增补UV-B辐射试验中可表现为叶片厚度的增加和单位叶片面积光合色素的可能增高;然而随处理时间的

持续, 增补UV-B辐射最终会促进叶片的衰老过程, 导致光合色素和叶片厚度的减少(师生波等, 2010; 2011a), 这种光形态结构的响应过程明显受植株生理状况和诸多环境因素的共同影响。以叶片鲜重为基础计算的光合色素含量也表明, 除6月份外, 与 Ambient UV-B对照相比, 增补UV-B处理也引起了叶片单位鲜重叶绿素和类胡萝卜素含量的略微降低(图表未列), 说明短时间(5天)增补UV-B辐射后美丽风毛菊叶片光合色素含量的降低趋势, 可能与短时间内光合色素形成过程受抑制和光氧化程度的加剧有关, 也缘于叶片厚度的略微减少。

UV-B吸收物质除能有效地吸收太阳光谱中UV-B波段的辐射, 避免高能量光子到达叶片光合机构等敏感部位外, 也是羟自由基和过氧化氢的有效猝灭剂(Lau *et al.*, 2006), 因此这种由类黄酮和衍生多酚类构成的UV-B吸收物质在保护叶肉细胞光合机构以及生物大分子DNA等免受损伤方面具有重要作用。同草盛期的研究(师生波等, 2010; 2011a), 不同月份短期增补UV-B辐射处理时, 美丽风毛菊叶片中UV-B吸收物质的含量并没有呈现一致和较为显著的变化(图4); 5月份其含量较高, 受叶片未完全展开的影响, 也说明这类物质的产生在叶片发育的早期即已存在, 为植物体抵御UV-B胁迫提供了有效的内部屏障。叶表皮层细胞中较多的UV-B吸收物质能有效地滤除强太阳短波辐射中的UV-B成分, 趋向于较少受环境中UV-B波动的影响(Ziska *et al.*, 1992); 也表明这类物质体内的代谢周期较长, 短期增补UV-B辐射处理并不能诱导其含量增加(师生波等, 2011c), 仅在渐入枯黄期的生长末期随环境因子的不断恶劣或极端变化略有降低趋势。

综上所述, 返青初期的5月份, PSII光化学效率、光合色素以及叶厚度对增补UV-B辐射都较为敏感; 与此相反, 渐入枯黄期时, 增补UV-B处理与对照相比几无差异, 或略有相反趋势; 尽管UV-B辐射能影响PSII反应中心的稳态光化学效率和光合色素等, 但其影响程度很弱, 往往会被其他环境因素的影响所掩盖, 以致于在自然条件下几乎难以察觉。显然, 主要分布在青藏高原及邻近的高山地区的美丽风毛菊, 在长期的进化和适应过程中已形成了对环境强UV-B辐射的耐性和适应机理。

致谢 国家自然科学基金项目(30670307、30570270

www.plant-ecology.com

和30170154)和国际科技合作重点项目计划(2002CB714006)资助。感谢瑞典隆德大学教授Lars Olof Björn提供了纤维素双乙酸酯薄膜和Mylar薄膜, 并对试验设计进行了指导; 感谢英国埃塞克斯大学Ulrike Bechtold博士对英文摘要的修改。

参考文献

- Allen DJ, Nogués S, Baker NR (1998). Ozone depletion and increased UV-B radiation: Is there a real threat to photosynthesis? *Journal Experimental Botany*, 49, 1775–1788.
- Baker NR (2008). Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis *in vivo*. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 89–113.
- Bilger W, Björkman O (1990). Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. *Photosynthesis Research*, 25, 173–185.
- Bilger W, Johnsen T, Schreiber U (2001). UV-excited chlorophyll fluorescence as a tool for the assessment of UV-protection by the epidermis of plants. *Journal Experimental Botany*, 52, 2007–2014.
- Björn LO (1999). Ultraviolet radiation, the ozone layer and ozone depletion. In: Rozema J ed. *The Effects of Enhanced UV-B Radiation on Terrestrial Ecosystem*. Backhuys, Leiden, the Netherlands. 21–27.
- Björn LO, Teramura AH (1993). Simulation of daylight ultraviolet radiation and effects of ozone depletion. In: Young AR, Björn LO, Moan J, Nultsch W eds. *Environmental UV Photobiology*. Plenum Press, New York. 41–71.
- Bornman JF (1989). Target sites of UV-B radiation in photosynthesis of higher plants. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 4, 145–158.
- Britt AB (1999). Molecular genetics of DNA repair in higher plants. *Trends in Plant Science*, 4, 20–25.
- Caldwell MM, Flint SD (1994). Stratospheric ozone reduction, solar UV-B radiation and terrestrial ecosystems. *Climate Change*, 28, 375–394.
- Costa H, Gallego SM, Tomaro ML (2002). Effect of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. *Plant Science*, 162, 939–945.
- Flint SD, Ryel RJ, Caldwell MM (2003). Ecosystem UV-B experiments in terrestrial communities: a review of recent findings and methodologies. *Agricultural and Forest Meteorology*, 120, 177–189.
- Galvez-Valdivieso G, Fryer MJ, Lawson T, Slattery K, Truman W, Smirnoff N, Asami T, Davies WJ, Jones AM, Baker NR, Mullineaux PM (2009). The high light response in

- Arabidopsis* involves ABA signaling between vascular and bundle sheath cells. *The Plant Cell*, 21, 2143–2162.
- Genty B, Briantais JM, Baker NR (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 990, 87–92.
- Jansen MAK, Gaba V, Greenberg BM (1998). Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. *Trends in Plant Science*, 3, 131–135.
- Joshi PN, Ramaswamy NK, Iyler RK, Nair JS, Pradhan MK, Gartia S, Biswal B, Biswal UC (2007). Partial protection of photosynthetic apparatus from UV-B-induced damage by UV-A radiation. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 166–172.
- Lau TSL, Eno E, Goldstein G, Smith C, Christopher DA (2006). Ambient levels of UV-B in Hawaii combined with nutrient deficiency decrease photosynthesis in near-isogenic maize lines varying in leaf flavonoids: flavonoids decrease photoinhibition in plants exposed to UV-B. *Photosynthetica*, 44, 394–403.
- Lizana XC, Hess S, Calderini DF (2009). Crop phenology modifies wheat responses to increased UV-B radiation. *Agricultural and Forest Meteorology*, 149, 1964–1974.
- Madronich S, Velders G, Daniel J, Lal M, McKulloch A, Slaper H (1999). Halocarbon scenarios for the future ozone layer and related consequence. In: Albritton D, Aucamp P, Megie G, Watson R eds. *Scientific Assessment of Ozone Depletion: 1998*. World Meteorological Organization, Geneva. 11.1–11.38.
- McKenzie RL, Aucamp PJ, Bais AF, Björn LO, Ilyas M (2007). Changes in biologically-active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 6, 218–231.
- Middleton EM, Teramura AH (1993). The role of flavonol glycoside and carotenoids in protecting soybean from ultraviolet-B damage. *Plant Physiology*, 103, 475–480.
- Oxborough K, Baker NR (1997). Resolving chlorophyll a fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and non-photochemical components: calculation of q_p and F_v'/F_m' without measuring F_o' . *Photosynthesis Research*, 54, 135–142.
- Paul ND, Gwynn-Jones D (2003). Ecological roles of solar UV radiation: towards an integrated approach. *Trends in Ecology and Evolution*, 18, 48–55.
- Quick WP, Stitt M (1989). An examination of factors contributing to non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in barley leaves. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 977, 287–296.
- Shi SB (师生波), Ben GY (贲桂英), Han F (韩发) (1999). Analysis of the solar UV-B radiation and plant UV-B-absorbing compounds in different regions. *Acta Phytocologica Sinica* (植物生态学报), 23, 529–535. (in Chinese with English abstract)
- Shi SB (师生波), Shang YX (尚艳霞), Zhu PJ (朱鹏锦), Yang L (杨莉) (2011a). Effects of short term enhanced UV-B radiation on the PSII photochemical efficiency of alpine plant *Saussurea superba*. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 22, 1147–1154. (in Chinese with English abstract)
- Shi SB (师生波), Shang YX (尚艳霞), Zhu PJ (朱鹏锦), Yang L (杨莉), Zhang B (张波) (2011b). Effects of solar UV-B radiation on the efficiency of PSII photochemistry in the alpine plant *Saussurea superba* under different weather conditions in the Qinghai-Tibet Plateau of China. *Chinese Journal of Plant Ecology* (植物生态学报), 35, 741–750. (in Chinese with English abstract)
- Shi SB (师生波), Shang YX (尚艳霞), Zhu PJ (朱鹏锦), Zhang DG (张德罡) (2010). Effect of enhanced UV-B radiation on photosynthesis and photosynthetic pigments in alpine plants *Saussurea superba*. *Acta Agrestis Sinica* (草地学报), 18, 607–614. (in Chinese with English abstract)
- Shi SB (师生波), Shang YX (尚艳霞), Zhu PJ (朱鹏锦), Zhang DG (张德罡) (2011c). Effects of UV-B exclusion on photosynthetic physiology in alpine plant *Saussurea superba*. *Chinese Journal of Plant Ecology* (植物生态学报), 35, 176–186. (in Chinese with English abstract)
- Shi SB, Zhu WY, Li HM, Zhou DW, Han F, Zhao XQ, Tang YH (2004). Photosynthesis of *Saussurea superba* and *Gentiana straminea* is not reduced after long-term enhancement of UV-B radiation. *Environmental and Experimental Botany*, 51, 75–83.
- Sicora C, Szilárd A, Sass L, Turcsányi E, Máté Z, Vass I (2006). UV-B and UV-A radiation effects on photosynthesis at the molecular level. In: Ghetti F, Checcucci G, Bornman JF eds. *Environmental UV Radiation: Impact and Human Health and Predictive Model*. Springer, the Netherlands. 121–135.
- Šprtová M, Špunda V, Kalina J, Marek MV (2003). Photosynthetic UV-B response of beech (*Fagus sylvatica* L.) saplings. *Photosynthetic*, 41, 533–543.
- van de Staaij JWM, Huijsmans R, Ernst WHO, Rozema J

- (1995). The effect of elevated UV-B (280–320 nm) radiation levels on *Silene vulgaris*: a comparison between a highland and a lowland population. *Environmental Pollution*, 90, 357–362.
- van Rensen JJS, Vredenberg WJ, Rodrigues GC (2007). Time sequence of the damage to the acceptor and donor sides of photosystem II by UV-B radiation as evaluated by chlorophyll a fluorescence. *Photosynthesis Research*, 94, 219–297.
- Xu DQ (许大全) (2002). *Photosynthetic Efficiency* (光合作效率). Shanghai Scientific and Technical Press, Shanghai. (in Chinese)
- Zhang SR (张守仁) (1999). A discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance. *Chinese Bulletin of Botany* (植物学通报), 16, 444–448. (in Chinese with English abstract)
- Zhu GL (朱广廉), Zhong HW (钟海文), Zhang AQ (张爱琴) (1990). *The Plant Physiological Experiment* (植物生理学实验). Beijing University Press, Beijing. 51–54. (in Chinese)
- Ziska LH, Termura AH, Sullivan JH (1992). Physiological sensitivity of plants along an elevational gradient to UV-B radiation. *American Journal of Botany*, 79, 863–871.

特邀编委: 张守仁 责任编辑: 李 敏