

# 不同天气类型下UV-B辐射对高山植物美丽风毛菊叶片PSII光化学效率的影响分析

师生波<sup>1\*</sup> 尚艳霞<sup>1,2</sup> 朱鹏锦<sup>1,2</sup> 杨莉<sup>1,2</sup> 张波<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>中国科学院西北高原生物研究所高原生物适应与进化重点实验室, 西宁 810001; <sup>2</sup>中国科学院研究生院, 北京 100049; <sup>3</sup>中国科学院国家科学图书馆兰州分馆, 中国科学院资源环境科学信息中心, 兰州 730000

**摘要** 以中国科学院海北高寒草甸试验站地区的美丽风毛菊(*Saussurea superba*)为材料, 通过短期滤除自然光谱中紫外线B (UV-B)辐射成分的途径, 研究了UV-B辐射对叶片光系统II (PSII)光化学效率的影响。不同天气的归纳分析表明, 随可见光辐射的降低, 暗适应3 min的PSII最大光化学量子效率( $F_{(v)}/F_{(m)}$ )显著升高; 与此同时PSII实际光化学量子效率( $\Phi_{PSII}$ )和光化学猝灭系数( $q_p$ )也显著升高, 非光化学猝灭系数( $NPQ$ )则显著降低。滤除UV-B辐射后, 3种典型天气类型下的 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 均略有升高趋势; 且 $\Phi_{PSII}$ 和 $q_p$ 增加, 而 $NPQ$ 略有降低趋势。量子效率的相对限制( $L_{(PFD)}$ )和PSII反应中心开放程度( $q_L$ )的进一步分析表明, UV-B辐射能显著影响辅酶A还原状态, 对高山植物美丽风毛菊的光合机构具有负影响。综上可知, 自然光中的可见光辐射是影响PSII激发能捕获效率的重要因素, PSII反应中心的光化学效率和非光化学能量耗散主要受光和有效辐射的影响; 滤除UV-B成分能减缓PSII反应中心的光抑制程度。

**关键词** 高山植物, 叶绿素荧光, PSII光化学效率, 青藏高原, UV-B辐射, 天气状况

## 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

SHI Sheng-Bo<sup>1\*</sup>, SHANG Yan-Xia<sup>1,2</sup>, ZHU Peng-Jin<sup>1,2</sup>, YANG Li<sup>1,2</sup>, and ZHANG Bo<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biology, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; <sup>2</sup>Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; and <sup>3</sup>The Lanzhou Branch of the National Science Library, the Scientific Information Center for Resources and Environment, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China

### Abstract

**Aims** Strong solar UV-B radiation accompanied with strong solar visible radiation is a characteristic of the environment of China's Qinghai-Tibet Plateau. Previous study confirmed that current ambient UV-B intensity has a small negative influence on the physiological response of the photosynthetic apparatus of the alpine plant *Saussurea superba*. Our objectives were to further analysis the influence of ambient UV-B intensity on PSII photochemistry efficiency under different weather conditions.

**Methods** Short-term field experiments of UV-B were conducted during the luxuriant growing season in *Kobresia humilis* meadow in the Haibei Alpine Meadow Ecosystem Research Station. We used the pulse-modulated *in vivo* chlorophyll fluorescence technique to obtain rapid information on the effects of UV-B intensities on photosynthetic performances in the native alpine plant *S. superba*. The maximum quantum efficiency of PSII photochemistry ( $F_{(v)}/F_{(m)}$ ) was measured after 3 minutes of dark radiation. The PSII photochemistry efficiency and non-photochemical quenching parameters were also measured. All chlorophyll fluorescence parameters were statistically analyzed with SPSS 11.0 software according to sunny, cloudy and shady weather states. Two-way ANOVA and least significant difference method (*LSD*) were used to compare differences among UV-B treatments and weather states.

**Important findings** There were significant increases of  $F_{(v)}/F_{(m)}$  in both ambient UV-B and low UV-B treatments when the weather changed from clear days to overcast days. Although there were no significant differences,  $F_{(v)}/F_{(m)}$  showed an increased trend in low UV-B when compared with ambient UV-B in all three weather states. This suggests that ambient UV-B intensity can delay the recovery of optimal photochemistry efficiency in *S. superba*. There were (a) increased tendency in actual photochemical efficiency of PSII ( $\Phi_{PSII}$ ) and photochemical

quenching ( $q_p$ ) and (b) small decreased tendency in non-photochemical quenching ( $NPQ$ ) in low UV-B treatment in comparison with ambient UV-B; however, all those fluorescence parameters were significantly changed among the three weather states. The variation of these PSII photochemistry efficiency parameters demonstrated that natural UV-B component can limit the photosynthetic performance. Further analysis confirmed that significant difference ( $p < 0.05$  on sunny days and  $p < 0.01$  on shady days) existed in relative limitation of quantum efficiency ( $L_{(PFD)}$ ) and fraction of opened PSII centers ( $q_L$ ). Although its effects were not always significant when compared with the influence of photosynthetically active radiation ( $PAR$ ), UV-B radiation can influence primary quinone electron acceptor of PSII ( $Q_A$ ) and there were negative effects on photosynthetic organization in *S. superba*.

**Key words** alpine plant, chlorophyll fluorescence, PSII photochemical efficiency, Qinghai-Tibet plateau, UV-B radiation, weather state

紫外线B (UV-B, 280–315 nm)辐射是太阳辐射光谱中非常重要的组成成分, 它能部分穿透大气层到达地球表面(van der Leun *et al.*, 1995; Madronich *et al.*, 1995)。尽管到达地面的UV-B辐射仅占太阳短波辐射的1.5%, 但由于它可能被一些重要的生物大分子(如核酸、蛋白质等)有效地吸收(Sicora *et al.*, 2003, 2006), 因此对地球生物圈中的生物, 尤其是陆地高等植物具有重要意义。近一个世纪以来, 氯氟烃(chlorofluorocarbons, CFCs)和氮氧化物的使用和随意排放已导致了大气平流层臭氧的耗损, 进而引起了近地表面UV-B辐射强度的增加(Madronich & Tang, 1995)。UV-B辐射增强作为全球环境变化的一个重要方面, 其生物学和生态学效应已引起了各国科学家和政策制定者的关注(Björn, 1999; Caldwell *et al.*, 2003; Paul & Gwynn-Jones, 2003)。

青藏高原作为世界第三极的高海拔地区, 是全球环境变化的敏感区之一, 有全球气候变化的“起搏器”和“效应器”之称。据报道, 青藏高原是同纬度的3个臭氧低谷中心之一(刘煜和李维亮, 2001)。周秀骥等(1995)对近10年的资料分析也表明, 整个中国地区的臭氧总量都在趋于减少, 其中青藏高原上空的臭氧损耗尤为严重, 常年维持一低值中心。我们(师生波等, 1999)对相近纬度不同海拔的实测结果也表明, 青藏高原地区近地表面太阳UV-B辐射强度与低海拔地区相比也很强。但UV-B辐射作为调节因子和胁迫因子对长期生活在青藏高原独特环境中的土著高山植物具有怎样的塑造作用, 我们对之尚缺乏必要的了解。

光合机构是绿色植物吸收光能和形成同化力的重要场所, 也是UV-B辐射的敏感位点之一。UV-B辐射对植物光合机构的影响表现在多方面,

包括叶绿体超微结构的伤害、天线色素间激发态转移的改变、Calvin循环酶活性的降低等(Sicora *et al.*, 2003, 2006), 它的任何抑制或受损都会影响到整个植物体的生理功能。研究表明, 叶绿体光合膜上光系统II (PSII)反应中心对UV-B辐射的增强非常敏感, 强UV-B能引起PSII放氧复合体、质体醌, 以及辅酶A ( $Q_A$ )和辅酶B ( $Q_B$ )电子受体等的结构改变, 进而影响PSII电子传递效率(Fiscus & Booker, 1995; Wang *et al.*, 2010)。Jansen等(1998)观察到, 增强UV-B辐射能加速D1蛋白的降解; 而从自然光中滤除UV-B成分时, D1蛋白的降解速率能降低30%。植物在长期的进化和适应过程中完善了多种防止和减轻光抑制和强光破坏的防御机制, 其中光合机构耗散过剩激发能使之安全转化为热能是植物对强光胁迫的适应方式之一(Demmig-Adams *et al.*, 1996)。但太阳光谱中的UV-B辐射成分是否也是加剧高山植物光抑制程度的一个主要因素, 非光化学途径是否能耗散UV-B辐射的能量, 对此尚缺乏必要的认识。

研究表明, 太阳辐射光谱中的UV-A (315–400 nm)和可见光成分能缓解UV-B辐射对植物的负影响(Gartia *et al.*, 2003; Sicora *et al.*, 2003, 2006), 显然基于自然可见光背景的田间试验更具有预测的说服力(Flint *et al.*, 2003)。然而野外条件下, 植物常暴露在多种环境因子的胁迫中, 除准确快捷的检测手段外, 能甄别其主要影响因素以及判定其响应趋势也尤为重要。本文以青藏高原典型的高山植物美丽风毛菊(*Saussurea superba*)为材料, 归纳分析了不同天气状况下太阳UV-B辐射成分对高山植物光合机构的影响, 目的在于确定当前环境中的太阳UV-B辐射是否已经影响着土著高山植物的PSII反

应中心光化学量子效率, 光合机构的能量耗散过程是否也受UV-B辐射影响。

## 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定位研究站(简称海北站)的综合观测场内, 该草场为藏系绵羊的冬季放牧场地, 称冬场。植被类型属高寒矮嵩草草甸, 土壤为高山草甸土。海北站位于青藏高原的东北隅, 地处祁连山东段冷龙岭南麓, 37°29′–37°45′ N、101°12′–101°33′ E; 海拔3 200 m。典型高原大陆性气候, 四季区分不明显, 通常分为冷季和暖季。冷季漫长、干燥而寒冷; 暖季短暂、湿润而凉爽。太阳辐射强, 年温差较小, 日温差较大。

高寒矮嵩草草甸由多年生草本植物组成, 美丽风毛菊为该草场的主要伴生种, 属阔叶性杂草。该种为我国特有植物, 主要分布在西藏、青海和甘肃等地。

### 1.2 滤除自然光中UV-B辐射成分的试验处理

短期滤除自然光谱中UV-B辐射成分的模拟试验主要参照Fiscus等(1999)和Flint等(2003)的方法, 并略有改进。试验在矮嵩草草甸植物群落的草盛期进行, 此时植株体型较大, 成熟叶片大且多, 加之环境条件适宜, 叶龄相对较长。海北站地区天气变化较快, 若处理期间突遇强风、暴雨等, 即停止处理, 待天气适宜时再做测定。滤除试验定在每天的8:30–17:30之间进行, 依天气状况等略有调节, 故每天的处理时数和每个试验的总有效处理时数不尽相同。

野外可移动处理架的设计、制作及田间安置等细节参见师生波等(1999)报道。滤除太阳光中UV-B成分的处理框架覆盖以Mylar型Luminar薄膜(Toray Co., Tokyo, Japan), 厚度0.08 mm, 能滤除自然光谱中的UV-B成分, 用low UV-B表示; 滤除UV-B辐射处理组的对照框架覆盖以CA膜(cellulose diactate), 厚度0.13 mm, 能透过自然光中的UV-B成分, 用amb UV-B表示。光谱吸收特性的比较分析表明, 在可见光范围内两种薄膜的透光率基本相同, 其扫描光谱的差异主要在280–315 nm的UV-B波段(图1)。

CA膜和Luminar膜仅暴露在自然光强下, 光学

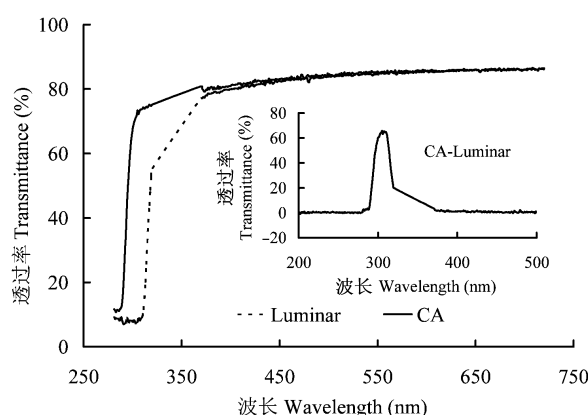


图1 醋酸纤维素薄膜和Luminar薄膜对可见光和紫外光谱的透光性比较。

Fig. 1 Comparison of transmittance of ultraviolet and visible light radiation through cellulose diactate and Luminar film. CA, cellulose diactate film; Luminar, Mylar type film; CA-Luminar, difference of transmittance between CA and Luminar film.

性质较为稳定, 短期试验期间不必更换。Luminar膜遇水容易变形, 若试验中突遇阴雨, 视变形程度及时更换。

### 1.3 叶绿素荧光参数的测定方法

设每一对相邻处理和对照为一个测定组, 叶绿素荧光参数的测定以组为单位进行, 以减少对照和处理之间由于间隔时间过长而可能导致的误差。采用FMS-2便携式脉冲调制荧光仪(Hansatech Instruments LTD, Norfolk, UK), 于叶片中部避开主脉分左或右测定光下和暗中的叶绿素荧光效率等参数。每次测定均在稳定照光处理约1.5 h后进行, 以确保叶片PSII反应中心开放程度的稳定。2009年的试验中使用了两台FMS-2便携式脉冲调制荧光仪, 每一组测定中保持相反的顺序。

用暗适应夹固定叶片的测定部位, 将荧光测定探头用开口式荧光探头固定架安置, 确保所测叶片的受光部位不被探头和其他植物所遮挡。稳态叶绿素荧光参数和暗适应3 min后PSII最大光化学量子效率 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 的测定方法见师生波等(1999)报道, 其中测定最大荧光强度 $F_m$ 、 $F_{(m)}$ 和 $F_m'$ 的饱和脉冲光强为 $8\ 000\ \mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 0.7 s脉冲。相对无环境胁迫且暗适应后光合机构全部PSII反应中心都开放时的初始荧光强度 $F_0$ , 和已暗适应叶片PSII反应中心都关闭时的 $F_m$ , 采用自然生长的美丽风毛菊健康

成熟叶片于下午太阳即将落山前用暗适应夹遮光,暗适应4–5 h,天黑后测定;稳态照光背景下光适应叶片的最小荧光产率 $F_o'$ 采用Oxborough和Baker (1997)的经验公式计算,即 $F_o' = F_o/(F_v/F_m - F_o/F_m)$ 。叶绿素荧光参数参照Bilger和Björkman (1990)以及Genty等(1989)的方法计算。其中, $\Phi_{PSII}$ 为PSII电子传递的实际光化学量子效率, $\Phi_{PSII} = (F_m' - F_s)/F_m'$ ;叶绿素荧光的光化学猝灭系数( $q_p$ )和非光化学猝灭系数( $NPQ$ )分别用下式计算, $q_p = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_o')$ , $NPQ = F_m/F_m' - 1$ 。一定 $PF D$ 下量子效率的相对限制参照许大全(2002)的方法估计, $L_{(PF D)} = 1 - \Phi_{PSII}/0.83$ ,式中0.83为最量子效率;PSII反应中心开放的比率 $q_L$ 用Baker (2008)方法估算, $q_L = q_p \times (F_o'/F_s)$ 。

#### 1.4 环境因子的测定和天气状况的分类界定

光合有效辐射( $PAR$ )采用LI-188B量子辐射计(LI-COR, Lincoln, USA)测定,UV-B辐射用Macam UV 203 A + B紫外辐射计(Photometrics, Livingston, UK)测定,大气相对湿度( $RH$ )和空气温度( $T_{air}$ )采用国产WHM1型温湿度仪(天津气象海洋仪器厂)测定。 $PAR$ 和UV-B辐射强度以各处理架下有效取样范围内对角线的5个测定数据的平均值表示; $RH$ 和 $T_{air}$ 测自各处理架中部,取植株冠层顶部的稳定读数为观测值。

测定叶绿素荧光参数的同时,观测和记录天气状况。依照天空云层的厚度和分布,以及对太阳直接辐射光强的影响程度,将测定当时的天气状况分为6个等级。等级I:全晴天,或即使天空有浮云但离太阳的距离较远,对直接辐射光强没有太大影响;等级II:太阳周围有漂浮的薄云,对直接辐射光强偶有影响;等级III:太阳被稀薄的云层遮挡,持续时间较长;等级IV:云层较厚,能持续地遮挡阳光,但地面阴影清晰可辨;等级V:云层厚,且持续遮挡阳光,地面阴影较难辨认;等级VI:云层较厚,常伴小雨。试验仅在前五类天气状况下进行,后期试验数据分析处理时鉴于各个分类之间的界定虽较为清晰,但判断时常存在一定误差,故重新归类将等级II和等级III归为一组,定为多云;等级IV和等级V归为一组,定为阴天。重新界定的各天气状况下的 $PAR$ 大致为:晴天为1 800  $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 左右;多云为800  $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 左右;阴天通常低于300  $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

#### 1.5 数据分析

本文数据选自2009年8月1–15日连续15天的增补试验。鉴于增补初期可能存在叶片的不适应和后期部分叶片可能因反复测定易导致衰老等影响,不同天气下叶绿素荧光参数的定级归类仅选用了8月4–10日的测定数据。

数据用SPSS11.0统计分析软件进行统计分析,采用双因素方差分析(two-way ANOVA)和最小显著差异法(LSD)比较不同处理间的差异,显著性水平设定为 $\alpha = 0.05$ 。用Microsoft Excel软件作图,图中数据以平均数表示,垂直条表示标准误差(SE)。图2中3种天气状况下所有测定项目的样本数为15;图3、图4、图5中晴天、多云、阴天的测定样本数分别为52、15和31。

## 2 结果和分析

### 2.1 短期滤除UV-B辐射处理期间不同天气类型下环境因子的变化

图2比较了短期滤除自然光谱中UV-B辐射成分处理时,各处理组及不同天气类型之间主要环境因子和UV-B辐射强度的变化。晴天、多云和阴天3种典型天气状况下的环境因子分别测自2009年7月23、24和26日,测定时间均为14:00。

图2表明,晴天、多云和阴天3种天气间,各相应处理架下的环境因子变化较大,都具极显著差异( $p < 0.001$ ,图中未作标示);随着 $PAR$ 的降低, $T_{air}$ 降低,而 $RH$ 升高;UV-B辐射强度也降低。amb UV-B和low UV-B两处理之间主要环境因子 $PAR$ 、 $RH$ 和 $T_{air}$ 的变化都没有显著性差异;3种天气状况下,amb UV-B辐射处理架下的UV-B辐射强度均极显著地高于low UV-B处理架下的( $p < 0.01$ )。说明不论天气状况如何,太阳UV-B辐射强度是两种处理间唯一具有显著差异的一个主要环境因子。

### 2.2 短期滤除UV-B辐射处理对美丽风毛菊叶片PSII光化学效率的影响

准确暗适应3 min后,PSII反应中心最大光化学效率 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 的差异反映了植物叶片可快速恢复组分的差异(Galvez-Valdivieso *et al.*, 2009)。图3A表明。依照云层厚度将天气状况归纳为晴天、多云、和阴天以后,随着 $PAR$ 的降低, $F_{(v)}/F_{(m)}$ 呈极显著增加( $p < 0.001$ ,图中未作标示);尽管3种天气下两处理间的 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 都没有显著差异,但与amb UV-B相

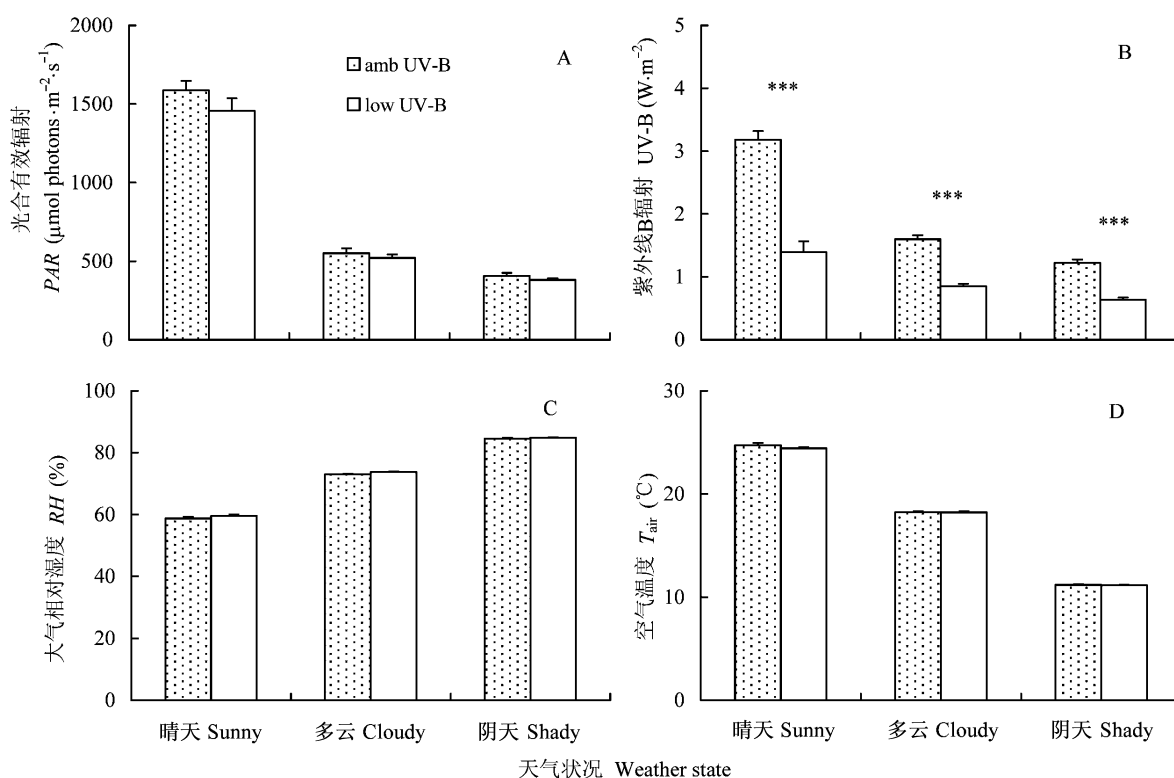


图2 不同天气状况下短期滤除自然光谱中UV-B辐射处理时UV-B辐射强度和主要环境因子的变化。晴天、多云和阴天的测定时间分别为14:15、13:45和14:00,测定日期为2009年7月23、24和26日;晴天、多云和阴天各相应处理之间具极显著差异( $p < 0.001$ ),图中未做标注。amb UV-B,环境UV-B辐射;low UV-B,滤除UV-B辐射。垂直条表示标准误差。\*\*\*, $p < 0.001$ 。

Fig. 2 Changes of UV-B radiation intensities and main environmental factors during the treatment of short-term removing UV-B component from natural sunlight under different weather states. Data measured under sunny day were collected at 14:15 on July 23, 2009, cloudy day at 13:45 on July 24, 2009 and shady day at 14:00 on July 26, 2009, respectively. The extremely significant differences ( $p < 0.001$ ) were exhibited among the results measured from sunny, cloudy, and shady day; and the significant mark did not shown in figures. amb UV-B, ambient UV-B radiation; low UV-B, decreased UV-B radiation; PAR, photosynthetically active radiation; RH, relative humidity of air;  $T_{air}$ , air temperature; UV-B, ultraviolet-B radiation. Vertical bar is SE. \*\*\*,  $p < 0.001$ .

比,滤除自然光谱中的UV-B辐射处理时 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 均有增加的趋势。说明PAR是影响 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 的主要因素,自然光谱中的UV-B辐射强度对 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 具有负影响。

图3B表明,美丽风毛菊叶片的PSII实际光化学效率 $\Phi_{PSII}$ 随天气由晴天到多云再到阴天的变化而呈极显著升高( $p < 0.001$ ,图中未作标示);3种典型天气下的结果一致显示,与amb UV-B相比,low UV-B处理时 $\Phi_{PSII}$ 都具有增加趋势,且晴天和阴天的 $\Phi_{PSII}$ 分别达到了极显著( $p < 0.01$ )和显著( $p < 0.05$ )水平。

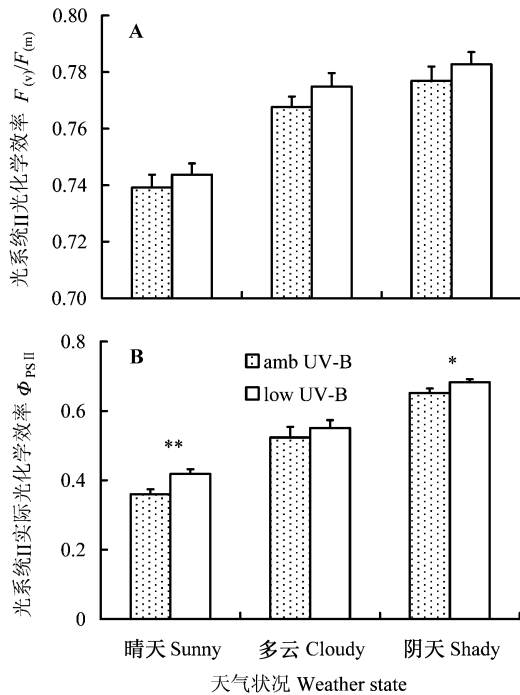
### 2.3 短期UV-B辐射处理对美丽风毛菊叶片光化学和非光化学猝灭的影响

稳态照光背景下,光化学猝灭系数 $q_p$ 和非光化学猝灭系数 $NPQ$ 也随PAR的降低而极显著变化( $p <$

$0.001$ ,图中未作标示);晴天、多云和阴天的测定结果都表明,low UV-B辐射处理对 $q_p$ 和 $NPQ$ 具有一定影响,且晴天和阴天的 $q_p$ 分别呈极显著( $p < 0.01$ )和显著( $p < 0.05$ )差异(图4A)。说明PAR是影响叶片PSII反应中心开放程度的主要因素,自然光谱中的UV-B成分能抑制叶片的光化学猝灭过程,并具有促进非光化学猝灭的趋势。

### 2.4 短期UV-B辐射处理对美丽风毛菊叶片量子效率相对限制和PSII反应中心开放程度的影响

量子效率的相对限制或光合功能的相对限制 $L_{(FPD)}$ 受自然光强的影响很大。当天气由晴天转为多云以至阴天时, $L_{(FPD)}$ 显著降低(图5A),说明来自PSII电子传递的限制程度也将随之减少。短期滤除自然光谱中UV-B辐射成分后,low UV-B处理下 $L_{(FPD)}$ 明显较低,且晴天和阴天分别具有极显著



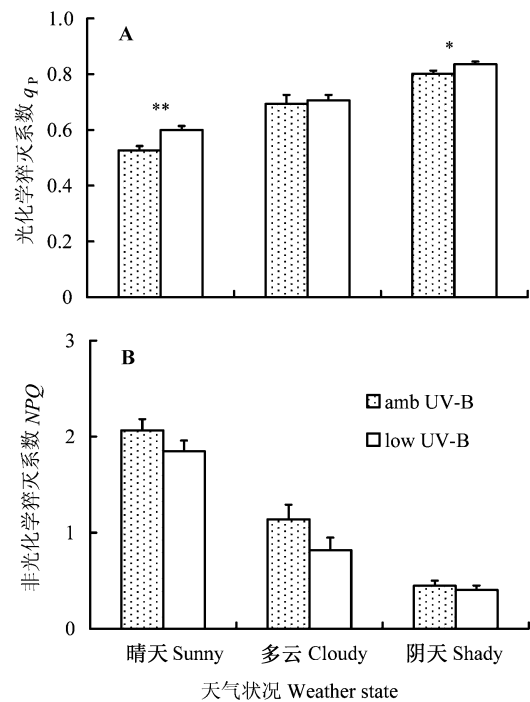
**图3** 不同天气状况下短期滤除自然光谱中UV-B辐射成分对美丽风毛菊叶片PSII光化学效率的影响。各相应处理的不同天气间具极显著差异( $p < 0.001$ ), 图中未作标示。amb UV-B, 环境UV-B辐射; low UV-B, 滤除UV-B辐射。垂直条表示标准误差。\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ 。

**Fig. 3** Effects of short-term removal of UV-B component from natural sunlight on quantum efficiency of PSII photochemical in *Saussurea superba* under different weather states. There were extremely significant differences ( $p < 0.001$ ) among different weather states and significant mark did not shown in figures. amb UV-B, ambient UV-B radiation; low UV-B, decreased UV-B radiation.  $F_{(v)}/F_{(m)}$ , 3 min dark adapted maximum quantum efficiency of PSII photochemistry;  $\Phi_{PSII}$ , actual photochemical efficiency of PSII. Vertical bar is SE. \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ .

( $p < 0.01$ )和显著( $p < 0.05$ )差异(图5A)。PSII反应中心的开放程度 $q_L$ 随PAR的降低而显著升高; 与amb UV-B对照相比, low UV-B处理下 $q_L$ 明显较低(图5B)。表明PAR是影响 $L_{(FPD)}$ 和 $q_L$ 的主要因素, 太阳光谱中的UV-B辐射成分也是限制 $L_{(FPD)}$ 和 $q_L$ 的因素之一。

### 3 讨论

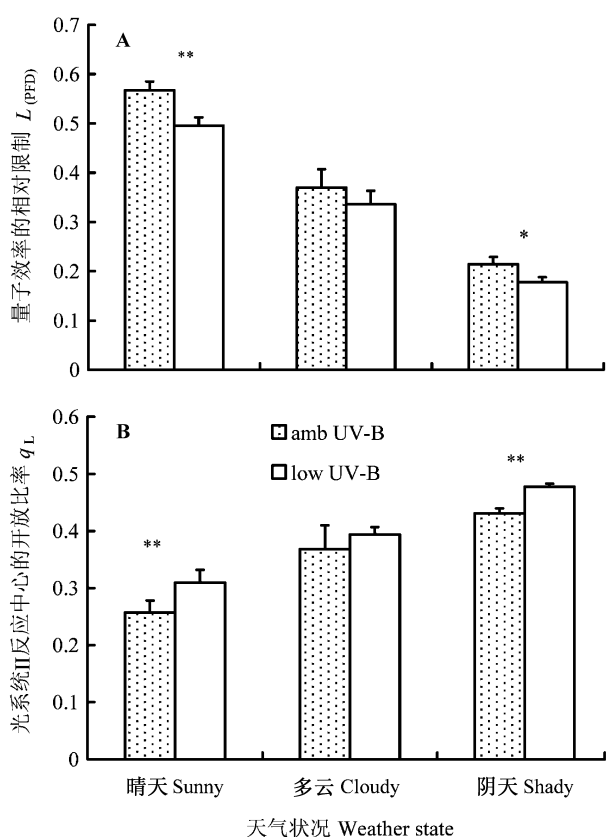
采用选择性滤光薄膜滤除自然光谱中UV-B辐射成分(UV-B-exclusion studies)的方法也是研究UV-B生物学效应的一个重要途径(Paul & Gwynn-Jones, 2003; Lau *et al.*, 2006)。本文采用Luminar和CA薄膜模拟自然光中UV-B辐射强度的降低, 两种



**图4** 不同天气状况下短期滤除自然光谱中UV-B辐射成分对美丽风毛菊叶片光化学和非光化学猝灭的影响。各相应处理的不同天气间具极显著差异( $p < 0.001$ ), 图中未作标示。amb UV-B, 环境UV-B辐射; low UV-B, 滤除UV-B辐射。垂直条表示标准误差。\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ 。

**Fig. 4** Effects of short-term removal of UV-B component from natural sunlight on coefficient of photochemical quenching ( $q_p$ ) and non-photochemical quenching (NPQ) in *Saussurea superba* under different weather states. There were extremely significant differences ( $p < 0.001$ ) among different weather states and significant mark did not shown in figures. amb UV-B, ambient UV-B radiation; low UV-B, decreased UV-B radiation. Vertical bar is SE. \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ .

薄膜在可见光范围内的透光率基本相同, 其差异主要在280–315 nm范围内的UV-B波段(图1)。尽管在315–370 nm的UV-A波段两薄膜也略有差异, 但若用一般植物响应曲线进行权重处理后, 此波段内的UV-B生物有效辐射(UV-B<sub>BE</sub>)很低, 几乎为零(Björn & Teramura, 1993), 说明两薄膜的对比试验能很好地反映UV-B辐射的生物学效应问题(Paul & Gwynn-Jones, 2003)。然而, 许多研究表明, UV-A辐射强度的差异能修饰植物的UV-B响应, 如促进叶气孔开放、激活光裂合酶(photolyases)对UV-B伤害的修复机理等(Gartia *et al.*, 2003; Sicora *et al.*, 2003, 2006), 认为UV-A在保护光合机构免于UV-B伤害方面存在有益的作用(Joshi *et al.*, 2007)。显然本滤除



**图5** 不同天气状况下短期滤除自然光谱中UV-B辐射成分处理时叶片量子效率的相对限制和PSII反应中心的开放程度变化。各相应处理的不同天气间具极显著差异( $p < 0.001$ ), 图中未作标示。amb UV-B, 环境UV-B辐射; low UV-B, 滤除UV-B辐射。垂直条表示标准误差。\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ 。  
**Fig. 5** Changes of relative limitation of quantum efficiency ( $L_{PFD}$ ) and fraction of opened PSII centers ( $q_L$ ) in *Saussurea superba* during treatment of short-terms removing UV-B radiation under different weather states. There were extremely significant differences ( $p < 0.001$ ) among different weather states and significant mark did not shown in figures. amb UV-B, ambient UV-B radiation; low UV-B, decreased UV-B radiation. Vertical bar is SE. \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ .

试验中两处理间UV-A表现的正效应要小于UV-B产生的负影响, 而滤除自然光谱中UV-B辐射成分后PSII光化学量子效率的略微提高正是UV-B对光合机构负影响的佐证。由图2可知, 3种典型天气下两处理间的UV-B辐射强度具有极显著差异( $p < 0.001$ ), 而其他环境因子如PAR、RH和 $T_{air}$ 的差异均不明显, 显然两处理间任何可辨的生物学(负)效应主要源于UV-B辐射的变化。无可置疑, 由于滤光膜在自然环境中容易受损且能阻挡降雨过程, 实际用于野外试验的并不很多(Pancotto *et al.*, 2005)。

叶绿素荧光分析技术具有快捷且无损伤的特

点, 已在植物光合生理的研究方面得到了广泛应用(张守仁, 1999)。充分地暗适应后的叶绿素荧光参数 $F_v/F_m$ 是叶片开放PSII反应中心潜在能量捕获效率的最佳估计, 然而这个参数也常被光化学和非光化学因素所改变(Baker & Oxborough, 2004), 其降低可能源于PSII反应中心光化学能力的部分减弱, 和(或)此段时间内由于非光化学猝灭增加而导致的持续下调(down regulation)。因此, 准确暗适应一定时间后, 不同处理或不同植物种之间 $F_v/F_m$ 的相对变化能在一定程度上反映各处理或种间的实质性差异(Galvez-Valdivieso *et al.*, 2009)。本文采用准确暗适应3 min后PSII最大光化学量子效率 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 的恢复程度来探测UV-B辐射对美丽风毛菊叶片光合机构的影响。3 min暗适应时依赖类囊体膜内外质子浓度差的非光化学猝灭的快相组分能完全恢复, 但潜在量子效率尚在恢复期间, 这主要与引起光抑制的慢相组分以及状态转换的中间相组分有关(Quick & Stitt, 1989)。一般认为, 光合作用光抑制的暗弛豫时间取决于植物的光合特性也与植物遭受胁迫的程度等有关(许大全, 2002); 光抑制的结果限制了PSII原初电子传递醌受体 $Q_A$ 的氧化速率, 也制约着PSII反应中心的快速开放和PSII潜在光化学量子效率的有效恢复(Galvez-Valdivieso *et al.*, 2009)。图3A表明, 短期滤除自然光中UV-B辐射成分处理时, 尽管3种典型天气下各处理和对照之间的差异均不显著, 但与amb UV-B对照相比, low UV-B处理时 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 能得到较快恢复, 意味着太阳光谱中的UV-B成分对PSII反应中心的能量捕获效率具有负影响。当然图3A结果清楚地显示, 随云层影响的加大,  $F_{(v)}/F_{(m)}$ 呈显著升高趋势, 说明可见光成分依然是光合机构光抑制的主要因素。

光适应叶片的PSII实际光化学量子效率 $\Phi_{PSII}$ 与通过PSII反应中心的线性电子传递通量(liner electron flux, LEF)有直接的联系, 因此又被称为PSII运行效率(PSII operating efficiency); 光化学猝灭系数 $q_P$ 提供了PSII反应中心原初电子接受体 $Q_A$ 氧化还原状态的相对度量, 与开放PSII反应中心的比例成非线性相关, 反映了 $Q_A$ 氧化程度。氧化态的 $Q_A$ 是PSII电子传递的原初醌受体, 决定着PSII激发能的捕获效率, 故 $q_P$ 也被称作PSII效率因子(PSII efficiency factor)。典型天气类型的归纳分析表明, 美丽

风毛菊叶片的 $\Phi_{\text{PSII}}$ 和 $q_p$ 随 $PAR$ 的降低而升高,而非光化学猝灭系数 $NPQ$ 则表现为降低趋势,且不同天气状况之间的差异均达到了极显著水平,说明可见光成分是影响光适应叶片稳态PSII光化学效率的主要因素。随 $PAR$ 的降低, $Q_A$ 趋于氧化,PSII反应中心逐渐开放,激发能用于 $Q_A$ 还原的效率得以提高,与此同时热耗散引起的激发能弛豫降低,PSII反应中心将激发能用于光化学反应的能力得到了恢复。尽管差异并不都显著,不同天气状况下的测定均表明,与对照amb UV-B相比,low UV-B处理时 $\Phi_{\text{PSII}}$ 和 $q_p$ 具有增加趋势(图2B和图3A),而 $NPQ$ 表现降低趋势(图3B),说明强UV-B辐射能加剧PSII反应中心的光抑制或伤害程度,即叶绿体光合膜上PSII对当前太阳辐射光谱中的UV-B成分也较敏感(van Rensen *et al.*, 2007)。很可能UV-B辐射也引起了PSII反应中心放氧复合体、质体醌,以及 $Q_A$ 和 $Q_B$ 电子受体等的结构改变,进而影响了通过PSII的线性电子传递速率(Fiscus & Booker, 1995; Jansen *et al.*, 1998)。

暗适应3 min时已恢复的PSII最大光化学量子效率 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 以及光适应叶片 $\Phi_{\text{PSII}}$ 的变化都表明,UV-B辐射对光合机构具有负影响,尽管这仍可能只是光抑制程度的加剧,并非源自对光合机构的光伤害,也未完全达到统计的显著性差异。3种典型天气下两处理间 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 以及稳态PSII光化学效率和 $NPQ$ 具有一致的变化趋势,说明自然光谱中的UV-B辐射成分能影响高山植物美丽风毛菊叶片光合机构的光化学和非光化学反应过程。显然,由于土著高山植物美丽风毛菊长期经历着强太阳光和强UV-B辐射的驯化,其短期UV-B强度变化所引起的PSII反应中心活性波动是微弱的,其影响也远小于可见光的作用。同时也应注意,野外条件下植物常暴露在多种环境因子如温度、干旱、虫害等的胁迫中,各环境因子的综合作用也会修饰UV-B辐射引起的效果,因此准确快捷的检测手段显得尤为重要。

稳定光强下植物叶片量子效率的相对限制或光合功能的相对限制 $L_{(PFD)}$ 提供了一个评判光合能力发挥或限制的相对度量。而基于PSII光合机构小湖模型(lake model)的荧光参数 $q_L$ ,被认为是PSII反应中心开放比率的直接估计(Baker, 2008)。该模型认为 $Q_A$ 的氧化还原状态与 $q_L$ 成线性关系,能更准确

地反映 $Q_A$ 库的氧化还原状态。典型天气的归纳分析表明, $PAR$ 是影响光合机构 $Q_A$ 氧化还原状态的主要因素,但太阳光谱中的UV-B辐射成分也能显著(阴天)甚至极显著(晴天)地影响 $Q_A$ 氧化还原状态,显然也是影响美丽风毛菊叶片光合功能的重要因素(图5A、5B)。

太阳UV-B辐射是环境因子中较为易变的一个动态组分(Björn, 1999)。影响环境UV-B辐射强度的因素很多,较大尺度的影响因素包括平流层臭氧、太阳高度角、海拔高度、云层覆盖和对流层污染,较小尺度范围内的影响因素有地表反射、遮阴和植物冠层等。青藏高原位于我国的西部,属高寒气候亦称高原山地气候,通常具有空气干燥、太阳辐射强、气温较低的特征;同时易变的天气也是该地区气候的一个显著特征。美丽风毛菊为我国特有的高山植物,主要分布在青藏高原及邻近的高海拔地区,显然能适应高原多变的气候特征。晴天植物叶片吸收的光能远多于光合代谢的需求,因此植物需通过非光化学猝灭以热的形式耗散PSII光捕获体吸收的过多激发能,避免光合链组分的过度还原;然而,阴天光合机构能迅速增大PSII反应中心的开放比例,提高PSII光化学效率,确保光合功能的有效运行。毋庸置疑,3种天气间除 $PAR$ 和UV-B辐射的显著差异外, $RH$ 和 $T_{\text{air}}$ 也有显著变化,阴天PSII光化学效率的提高意味着 $RH$ 特别是低 $T_{\text{air}}$ 对光合机构的影响较小,也反映了高山植物美丽风毛菊对低温胁迫的一种适应。

本文采用two-way ANOVA双因素方差分析法,研究了 $PAR$ 和UV-B辐射强度变化对高原特有植物美丽风毛菊的影响。一方面证明了太阳可见光辐射是影响PSII光化学效率的主要因素,另一方面也证实了UV-B辐射成分所具有的负影响。然而,试验结果并没有完全阐明UV-B与可见光对PSII光化学效率的相对影响问题。采用滤光薄膜可研究不同 $PAR$ 背景下UV-B辐射强度引起的生物学效应,但无法实现相同UV-B下不同 $PAR$ 背景的处理。尽管可以在不用典型天气之间间接分析相同或相似UV-B下 $PAR$ 的作用,但这种方法无法保证其他环境因子的一致,而且照光处理时间也有较大差异。因此,有必要结合其他手段(如添加人工LED光源)从根本上改进试验设计,直接研究UV-B与可见光的相对作用。



## 4 结论

(1) 太阳辐射光谱中的可见光成分是影响稳态光化学效率和非光化学猝灭的主要因素。随着 PAR 的降低,  $Q_A$  趋于氧化, PSII 反应中心逐渐开放, 激发能捕获效率和实际量子效率都得以提高, 与此同时热耗散引起的激发能弛豫降低。(2) 自然太阳光谱中的 UV-B 成分对 PSII 光化学活性具有负影响, 这种 UV-B 诱导的 PSII 光化学效率和非光化学猝灭过程的波动相对较弱, 与自然光强引起的变化相比有时几乎难以察觉。(3) UV-B 辐射能显著(阴天)甚至极显著(晴天)地影响  $Q_A$  氧化还原状态, 这也是影响高原土著植物美丽风毛菊光合机构的一个重要因素。

**致谢** 国家自然科学基金课题(30670307、30570270 和 30170154)资助项目和国际科技合作重点项目计划(2002CB714006)的部分研究内容。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

- Baker NR (2008). Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis *in vivo*. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 89–113.
- Baker NR, Oxborough K (2004). Chlorophyll fluorescence as a probe of photosynthetic productivity. In: Papageorgiou GC, Govindindjee eds. *Chlorophyll A Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*. Springer, Dordrecht, the Netherlands. 65–83.
- 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.
- Björn LO (1999). Ultraviolet-B radiation, the ozone layer and ozone depletion. In: Rozema J ed. *The Effects of Enhanced UV-B Radiation on Terrestrial Ecosystems*. 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.
- Caldwell MM, Ballaré CL, Bornman JF, Flint SD, Björn LO, Teramura AH, Kulandaivelu G, Tevini M (2003). Terrestrial ecosystems, increased solar ultraviolet radiation and interactions with other climatic change factors. In: van der Leun JC, Tang XY, Tevini M eds. *Environmental Effects of Ozone Depletion and Its Interactions with Climate Change: 2002 Assessment*. UNEP 2002 Assessment, United Nations Environment Programme. 55–75.
- Demmig-Adams B, Adams WW, Barker DH, Logan BA, Bowling DR, Verhoeven AS (1996). Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiologia Plantarum*, 98, 253–264.
- Fiscus EL, Booker FL (1995). Is increased UV-B a threat to crop photosynthesis and productivity? *Photosynthesis Research*, 43, 81–92.
- Fiscus EL, Philbeck R, Britt AB, Booker FL (1999). Growth of *Arabidopsis* flavonoid mutants under solar radiation and UV filters. *Environmental and Experimental Botany*, 41, 231–245.
- 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, Smimoff 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.
- Gartia S, Pradhan MK, Joshi PN, Biswal UC, Biswal B (2003). UV-A irradiation guards the photosynthetic apparatus against UV-B-induced damage. *Photosynthetica*, 41, 545–549.
- 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*, 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, Iyer 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.
- Liu Y (刘煜), Li WL (李维亮) (2001). Deepening of ozone valley over Tibetan Plateau and its possible influences. *Acta Meteorologica Sinica* (气象学报), 59, 97–106. (in Chinese with English abstract)
- Madronich S, McKenzie RL, Caldwell MM, Björn LO (1995). Changes in ultraviolet radiation reaching the earth's surface. *AMBIO*, 24, 143–152.

- Madronich S, Tang XY (1995). Effects of increased solar ultraviolet radiation on tropospheric composition and air quality. *AMBIO*, 24, 188–190.
- 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.
- Pancotto VA, Sala OE, Robson TM, Caldwell MM, Scopel AL (2005). Direct and indirect effects of solar ultraviolet-B radiation on long-term decomposition. *Global Change Biology*, 11, 1982–1989.
- 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*, 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)
- Sicora C, Máté Z, Vass I (2003). The interaction of visible and UV-B light during photodamage and repair of photosystem II. *Photosynthesis Research*, 75, 127–137.
- 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, Bornmann JF eds. *Environmental UV Radiation: Impact on Ecosystems and Human Health and Predictive Models*. Springer, Dordrecht, the Netherlands. 121–135.
- van der Leun JC, Tang XY, Tevini M (1995). Environmental effects of ozone depletion: 1994 assessment. *AMBIO*, 24, 138–142.
- van Rensen JJ, Vredenberg WJ, Rodrigues GC (2007). Time sequence damage of the acceptor and donor sides of photosystem II by UV-B radiation as evaluated by chlorophyll a fluorescence. *Photosynthesis Research*, 94, 219–297.
- Wang GH, Hao ZJ, Anken RH, Lu JY, Liu YD (2010). Effects of UV-B radiation on photosynthesis activity of *Wolffia arrhiza* as probed by chlorophyll fluorescence transients. *Advances in Space Research*, 45, 839–845.
- 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)
- Zhou XJ (周秀骥), Luo C (罗超), Li WL (李维亮), Shi JE (史久恩) (1995). Changes of total ozone in whole China and its low contents center in Qing-Zang plateau regions. *Chinese Science Bulletin* (科学通报), 40, 1396–1398. (in Chinese with English abstract)

责任编辑: 石培礼 责任编辑: 李 敏