

滤除自然光中UV-B辐射成分对高山植物美丽风毛菊光合生理的影响

师生波^{1,2*} 尚艳霞² 朱鹏锦² 张德罡¹

¹甘肃农业大学草业学院, 草业生态系统教育部重点实验室(甘肃农业大学), 中-美草地畜牧业可持续发展研究中心, 兰州 730070; ²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

摘要 采用滤除自然光谱中UV-B辐射成分的方法, 探讨了高山植物美丽风毛菊(*Saussurea superba*)光合机构对青藏高原强UV-B辐射的响应和适应特性。结果表明, 强太阳光中的UV-B成分能引起净光合速率的降低。连续16天不同天气下的观测表明, 滤除UV-B处理时3 min暗适应的光化学量子效率有升高的趋势; 晴天下稳态光化学效率的分析也显示滤除UV-B处理的实际光化学量子效率和光化学猝灭系数有升高趋势, 意味着自然光中的UV-B成分可限制美丽风毛菊叶片PSII反应中心的激发能捕获效率。PSII有效光化学量子效率的增加和非光化学猝灭系数的降低进一步表明, UV-B辐射能导致有效光化学效率的降低和非光化学能量耗散的增加。由上可知, 自然强UV-B辐射是限制美丽风毛菊叶片光合作用的一个因素。滤除UV-B辐射处理对光合色素含量的影响较小, 无论以叶面积还是叶鲜重为基础的滤除UV-B处理仅有微弱的增加趋势, 说明强UV-B辐射具有加速光合色素的光氧化进程, 促进细胞成熟和叶片衰亡的潜在作用。同样UV-B吸收物质的含量也几乎没有变化, 表明强太阳辐射环境下生活的高山植物美丽风毛菊叶表皮层中已具有较多的紫外线屏蔽物质, 足以抵御目前环境中强太阳UV-B辐射可能引起的伤害, 较少受UV-B辐射波动的影响。

关键词 高山植物, 叶绿素荧光, 光化学效率, 青藏高原, UV-B辐射

Effects of UV-B exclusion on photosynthetic physiology in alpine plant *Saussurea superba*

SHI Sheng-Bo^{1,2*}, SHANG Yan-Xia², ZHU Peng-Jin², and ZHANG De-Gang¹

¹College of Pratacultural Science, Key Laboratory of Grassland Ecosystem (GAU) in Ministry of Education, Sino-U.S. Centers for Grazingland Ecosystem Sustainability, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; and ²Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biology, Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China

Abstract

Aims In the Qinghai-Tibet area, high levels of UV-B radiation reach the earth's surface as part of strong solar radiation. It is therefore important to examine the response and adaptation of native alpine plants to strong UV-B radiation. Our objective was to determine the physiological response of the photosynthetic apparatus to current ambient UV-B intensity.

Methods UV-B-exclusion experiments were conducted on a field site with UV-B-excluding and UV-B-transmitting filters. The two filters transmitted similar levels of photosynthetically active radiation, and there were no differences in air temperature and relative humidity under these metal-frame suspended plastic filters. The experiments were performed in alpine *Kobresia humilis* meadow with the native alpine species *Saussurea superba*. Pulse-modulated *in vivo* chlorophyll fluorescence was mainly used to obtain rapid information on UV-B effects on photosynthetic processes. The trials lasted 15 or 16 days during the growing season of July and August in 2008 and 2009. We measured the 3-min dark-adapted quantum efficiency of PSII photochemistry ($F_{(v)}/F_{(m)}$), PSII photochemistry efficiency and photosynthetic gas exchange parameters under natural sunlight. The contents of photosynthetic pigments and UV-B-absorbing compounds were analyzed in terms of both leaf area and leaf fresh weight units.

Important findings Net photosynthetic rate, significantly increased after removal of UV-B components from natural sunlight. Although there was no significant difference, the $F_{(v)}/F_{(m)}$ was increased in low UV-B treatment compared with the ambient UV-B control. Both the coefficient of photochemical quenching and actual photochemical efficiency of PSII in the light were higher in low UV-B treatment compared to ambient UV-B during the

16 days of continuous measurement during clear days. Variation of PSII maximum efficiency in the light and nonphotochemical quenching further confirmed that the decrease in PSII photochemistry efficiency and increase in nonphotochemical quenching were the results of a strong solar UV-B component in natural sunlight. There was only a slight increase in photosynthetic pigments based both on leaf area and fresh weight after removing UV-B radiation, and these phenomena indicated that strong solar UV-B radiation could photo-oxidize photosynthetic pigments and further accelerate the maturity and senescence of plant cells. UV-B-absorbing compounds were not altered after removal of UV-B radiation, which suggested that high levels of UV-B-absorbing compounds in the epidermal cell layer could protect photosynthetic function from UV-B.

Key words alpine plant, chlorophyll fluorescence, photochemical efficiency, Qinghai-Tibet Plateau, UV-B radiation

太阳紫外线B (UV-B, 280–315 nm)辐射强度受多种因素的影响,是环境因子中较为易变的一个动态组分。高海拔地区由于空气稀薄且悬浮颗粒少,因此到达近地表面的太阳UV-B辐射强度相对较高(Madronich *et al.*, 1995; Björn, 1999)。尽管UV-B波段在太阳辐射光谱中所占的比例很小(通常不到光合有效辐射的1.5%),但它对植物的生理生化等代谢过程的影响是不可忽视的。UV-B辐射能够影响植物的形态结构、光合生理、开花和授粉等(Pinto *et al.*, 1999; Petropoulou *et al.*, 2001; Sicora *et al.*, 2003),其中DNA和RNA、蛋白质、脂质和色素被认为是UV-B辐射的主要靶目标(Caldwell & Flint, 1994; Sicora *et al.*, 2006)。UV-B辐射对光合作用的潜在损害包括光系统II (PSII)反应中心的失活、Rubisco酶活性的降低、光合色素水平的降低、光合基因转录过程的下调,以及类囊体完整性的降低和叶绿体超微结构的改变等(van Rensen *et al.*, 2007),其中UV-B辐射引起的PSII反应中心失活尤为引人关注。

光合作用是植物最重要的生理过程之一,也是评判UV-B生物学效应的重要指标。但评价UV-B辐射对光合作用的影响以及与环境的关系是相当困难的,许多在实验室观测到的伤害作用在田间试验中难以再现(Fiscus & Booker, 1995)。通常认为,植物对UV-B辐射的响应是伤害作用、修复过程和驯化反应的综合平衡结果(Jansen *et al.*, 1998)。典型的修复机理为光裂合酶(photolyases)催化的光复活过程。光修复过程需要可见光和UV-A (315–400 nm)的存在,它能使UV-B辐射造成的DNA损伤得以修复(Sicora *et al.*, 2003, 2006)。驯化响应包括能有效屏蔽UV-B辐射的类黄酮和多酚类物质的增加(Rozema *et al.*, 2002),以及氧自由基清除能力的增强(Costa *et al.*, 2002; Lizana *et al.*, 2009)。植物对

UV-B辐射的抗性和敏感性差异反映了伤害作用、修复过程和驯化反应之间相互平衡的一种变换和复杂均衡过程,是导致植物种间甚至品种间UV-B响应明显差异的一个原因,即有些物种能被UV-B辐射刺激而产生抗性,而有些则非常敏感。

强太阳辐射能引起叶片光合机构的光抑制和伤害现象,干旱、低温等胁迫因素显然是加剧这一过程的主要环境因素(许大全, 2002)。但强UV-B辐射能否也参与光抑制和伤害过程,青藏高原强太阳UV-B辐射是否已经对植物的生长发育构成了胁迫?长期生活在高原恶劣环境下的典型高山植物对强UV-B辐射的适应性如何?本文以青藏高原典型高山植物美丽风毛菊(*Saussurea superba*)为材料,在高原强太阳辐射背景下,通过短期滤除UV-B辐射试验,探讨了长期生长在青藏高原地区的高山植物光合机构对UV-B辐射的适应性。

1 试料和方法

1.1 试验样地及植物材料

试验样地设立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。植被类型为高寒矮嵩草(*Kobresia humilis*)草甸,系冬季藏系绵羊的放牧场地。研究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,土壤类型为高山草甸土。该地区气候具有典型的高原大陆性气候特点,无四季之分,仅有冷暖季之别,冷季漫长、干燥而寒冷;暖季短暂、湿润而凉爽。太阳辐射强烈,温度年差较小,且日差较悬殊。

高寒矮嵩草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。主要的伴生种有羊茅(*Festuca ovina*)、异针茅(*Stipa grandis*)等禾草,杂类草有高山紫菀(*Aster alpina*)、

湿生扁蕾 (*Gentianopsis paludosa*)、高山唐松草 (*Thalictrum alpinum*)、异叶米口袋 (*Gueldenstaedtia diversifolia*)、黄帚橐吾 (*Ligularia virgaurea*) 等主要植物。美丽风毛菊为该草场的主要伴随种, 属阔叶性杂草。

1.2 滤除自然光中UV-B辐射成分的试验处理

短期UV-B辐射试验选在矮嵩草草甸植物群落的草盛期进行, 此时美丽风毛菊植株体型较大, 可供测试的成熟叶片较多。试验在2008年7月29日–8月12日连续16天的短期UV-B处理试验基础上, 2009年7月14–29日和8月1–15日又进行了2次持续两周的野外试验, 在测试叶片出现较多褐斑时结束。处理时间在每天8:30–17:30, 根据天气晴阴等略有调节。

滤除自然光中UV-B辐射成分的模拟试验参照 Flint等(2003)的方法并略有改进。易移动的样方框架采用三角铝材制作, 顶部为长方形, 长100 cm, 宽80 cm, 高45 cm。滤除处理的框架覆盖厚0.08 mm的Luminar薄膜(Mylar型, Toray Co., Tokyo, Japan), 能滤除自然光中绝大多数的UV-B, 用low UV-B表示。对照框架覆盖厚度为0.13 mm的CA膜, 能透过自然光中的绝大多数UV-B, 用amb UV-B表示。

滤除试验的处理和对照均设3个重复, 每一对相邻low UV-B和amb UV-B构成一个测定组。选择6块美丽风毛菊植株大小和叶片数目相近的样地, 将处理框架安放在选定的测试植株上, 沿长度东西方向排列并固定于地面。薄膜裁为边长100 cm的正方形, 在框架东西两边各下垂10 cm, 以抵挡早晚较多的散射光。田间和室内测定均表明, 在可见光区域两种薄膜的透过率均为92%; CA膜和Luminar膜对UV-B和UV-A的透过率分别为75%、15%和30%、12%。2009年7月18日北京时间12:00晴天无云的观

测结果表明, low UV-B处理与amb UV-B对照架下的空气相对湿度(RH)、气温(T_{air})无差异(表1)。光合有效辐射(PAR)采用LI-188B量子辐射计(LI-COR, Lincoln, USA)测定, UV-B和UV-A采用Macam UV 203 A+B紫外辐射计(Photometrics, Livingston, UK)测定, RH和 T_{air} 采用WHM1型温湿度仪(天津气象海洋仪器厂)测定。

Luminar薄膜遇水容易变形, 若试验中遭遇阴雨, 视变形程度及时更换。为了确保两种薄膜在使用过程中光学性质基本一致和稳定, 每次试验均启用新薄膜。

1.3 光合生理参数的测定

1.3.1 叶片净光合速率

在每样方中选择并标记完全展开的健康成熟叶片3–4枚, 确保叶龄和叶片方位相近。用CI-301SP光合蒸腾测定仪(CID, Idaho City, USA)测定叶片净光合速率(P_n)及其他气体交换指标。试验选在晴天进行, 数据分析以9:30–11:30之间的测定值为主, 试验结果以amb UV-B对照为参考用相对变化的百分数表示。2009年7月28日光合参数测定期间的空气温度为(29.8 ± 4.5) °C, 大气相对湿度为(45.4 ± 9.7)%, PAR为(855 ± 50) $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 大气CO₂浓度为(286 ± 21) $\text{mmol CO}_2\cdot\text{mol}^{-1}$ 。

1.3.2 叶绿素荧光参数

用FMS-2便携式脉冲调制荧光仪(Hansatech Instruments LTD, Norfolk, UK)测定叶绿素荧光参数。选健康成熟叶片的中部, 避开叶脉取左或右半部分测定。2009年的野外试验中使用了两台同样型号的调制荧光仪, 在同一测定单位中互为相反顺序测定。

30 s间隔连续测定3次处理叶片的最大荧光产率(F_m')和稳态荧光产率(F_s)后, 立即用自制的暗适

表1 滤除UV-B辐射试验中主要环境因子的变化(2009年7月18日)(平均值±标准误差, $n = 15$; $p = 0.05$)

Table 1 Changes of main environmental factors in UV-B-exclusion experiments in July 18, 2009 (mean ± SE, $n = 15$; $p = 0.05$)

	amb UV-B	low UV-B	差异显著性 Significance
光合有效辐射 PAR ($\mu\text{mol photon}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	1 767 ± 33	1 726 ± 43	0.398
大气相对湿度 Air relative humidity (%)	65.06 ± 0.23	64.88 ± 0.16	0.524
空气温度 Air temperature (°C)	24.09 ± 0.06	24.03 ± 0.02	0.340
紫外线-B UV-B ($\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$)	4.05 ± 0.10	1.74 ± 0.27	0
紫外线-A UV-A ($\text{mW}\cdot\text{m}^{-2}$)	18.74 ± 0.28	15.27 ± 0.25	0

amb, ambient; PAR, photosynthetically active radiation.

应密封罩遮盖开口式荧光探头固定架, 避光准确暗适应3 min后, 测定叶片电子传递链基本完全还原后的最小荧光产率($F_{(0)}$)和电子接受体完全氧化后的最大荧光产率($F_{(m)}$)。暗适应3 min, 后PSII光化学量子效率以 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 表示, 反映依赖类囊体膜内外质子浓度差而产生的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 & Stitt, 1989)。选自然生长且相对无环境胁迫的美丽风毛菊健康成熟叶片, 下午太阳即将落山前, 用暗适应夹遮光, 暗适应4–5 h, 于天黑后测定。光合机构全部PSII反应中心都开放时的初始荧光强度(F_0), 和都关闭时的最大荧光强度(F_m)用于以下叶绿素荧光参数的计算。测定 F_m 、 $F_{(m)}$ 和 F_m' 的饱和和脉冲光强为8 000 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 0.7 s脉冲。以Oxborough和Baker (1997)经验公式计算光适应下最小荧光产量(F_0'), 即 $F_0' = F_0/(F_v/F_m - F_0/F_m')$ 。PSII有效光化学量子效率(F_v'/F_m')表示可见光下PSII开放陷阱的量子效率, 其中光适应叶片的最大可变荧光强度 $F_v' = F_m' - F_0'$ 。PSII电子传递的实际光化学量子效率(Φ_{PSII}) = $(F_m' - F_s) / F_m'$ (Genty *et al.*, 1989)。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, $q_P = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_0')$; $NPQ = F_m'/F_m - 1$ (Bilger & Björkman, 1990)。

1.3.3 叶绿素和类胡萝卜素含量

取经UV-B辐射处理后的成熟叶片数枚, 用直径0.7 cm的打孔器取叶圆片, 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(Shi *et al.*, 2004)。叶绿素和类胡萝卜素含量的测定与计算见朱广廉等(1990), 光合色素含量同时以单位叶面积和叶鲜重表示。

1.3.4 UV-B吸收物质含量的测定

取经UV-B辐射处理后的成熟叶片数枚, 用直径0.7 cm的打孔器取叶圆片, 浸入内盛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。UV-B吸收物质的含量以10 mL酸化甲醇提取液中, 单位叶面积或叶鲜重在200–400 nm范围内的紫外吸收曲线表示, 即 $\text{OD}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot 10\text{ mL}^{-1}$ 或 $\text{OD}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot 10\text{ mL}^{-1}$ (Shi *et al.*, 2004)。

1.4 数据分析

用SPSS 11.0统计分析软件对数据进行统计分

析, 采用独立样本 t 检验法比较各处理间的差异显著性。统计数据用Microsoft Excel软件作图。

2 结果和分析

2.1 滤除UV-B辐射处理对美丽风毛菊叶片净光合速率的影响

图1表明, 滤除自然光谱中UV-B辐射成分处理的第15天, 以amb UV-B对照为参考时, low UV-B处理能极显著地提高美丽风毛菊叶片的 P_n ($p < 0.01$); 与此同时, 叶片的气孔导度(G_s)略有升高, 而细胞间隙 CO_2 浓度(C_i)在low UV-B处理后有显著降低的趋势($p < 0.05$)。

2.2 滤除UV-B辐射处理对美丽风毛菊叶片光化学量子效率的影响

图中数据除第1天、第4天和第14天为多云或较阴天的测定外, 其余均为全晴天, 或即使有云但没有对测定过程构成影响的天气状况下的试验数据。

连续16天的滤除试验表明, 除第7天外, low UV-B处理时美丽风毛菊叶片的 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 有升高趋势, 即自然光谱中的UV-B辐射对暗适应3 min后的PSII光化学量子效率 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 有负影响; 试验后期尽管田间采样和叶片趋于枯黄等导致了供试样本数目的降低, 但第14天(阴天)和第16天(晴天)都表现出极显著差异(图2)。

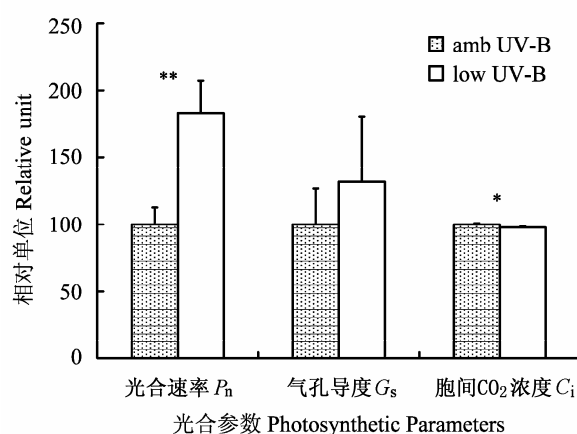


图1 2009年7月滤除自然光中UV-B辐射成分处理对美丽风毛菊叶片光合作用的影响。垂直条表示标准误差。*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$ 。

Fig. 1 Effects of removal of UV-B component from natural sunlight on photosynthesis in *Saussurea superba* in July 2009. Vertical bar is SE. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$. C_i , intercellular CO_2 concentration; P_n , net photosynthetic rate; G_s , stomatal conductance.

通常草盛期成熟美丽风毛菊叶片的叶龄约为两周，依胁迫因素如晚上霜冻的程度而有所变化。观测表明，与low UV-B处理相比，amb UV-B架下的美丽风毛菊常有较多褐斑出现在叶片边缘和叶尖，似叶片更易受到伤害。这一现象在2009年8月的试验中较为明显，一个直接原因可能为此间较为频繁的降雨和低温下强太阳UV-B辐射的影响相对加剧。

2.3 滤除UV-B辐射处理对美丽风毛菊叶片稳态PSII光化学效率的影响

叶片稳态PSII光化学效率的测定是以田间自然光为背景进行的，天气状况尤其是测定过程中云层变化对各荧光参数具有显著的影响。为了比较清晰地阐述美丽风毛菊叶片的稳态光化学效率对短期滤除UV-B辐射的响应，在数据处理时仅采用了全晴天或即使有云但无云层干扰时的原始数据。

图3表明，low UV-B处理时，除第2天和第4天的两次测定(p 分别为0.474 9和0.651 6; n 分别为10和4)外，美丽风毛菊叶片 F_v'/F_m' 高于对照amb UV-B (p 分别为0.516 6、0.021 4、0.168 3、0.041 4、0.103 5和0.136 5; n 分别为16、15、9、5、5和4) (图3A); 而 Φ_{PSII} 在整个处理期间均较高(p 分别为0.304 3、0.567 1、0.311 6、0.010 1、0.138 7、0.113 8、0.347 1和0.398 3;

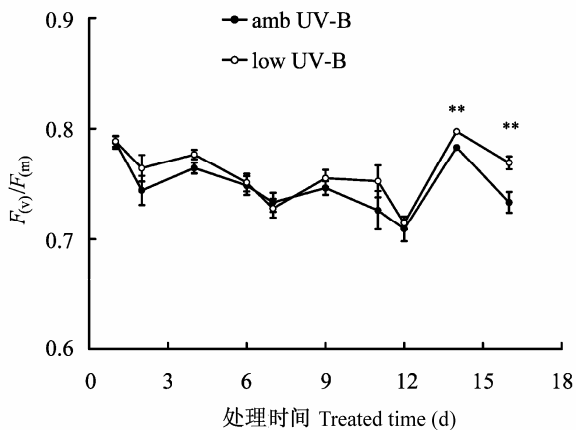


图2 2008年8月滤除自然光中UV-B辐射成分处理对美丽风毛菊叶片暗适应3 min后PSII光化学量子效率(F_v/F_m)的影响。图中连续16天的测定中，由于天气等原因每次的样本数目从4到22不等。垂直条表示标准误差。**, $p < 0.01$ 。

Fig. 2 Effects of removal of UV-B components from natural sunlight on 3 min dark adapted quantum efficiency of PSII photochemistry (F_v/F_m) in *Saussurea superba* in August 2008. Data numbers were from 4 to 22 during the 16 days of continue measurement due to the influence of weather condition. Vertical bar is SE. **, $p < 0.01$.

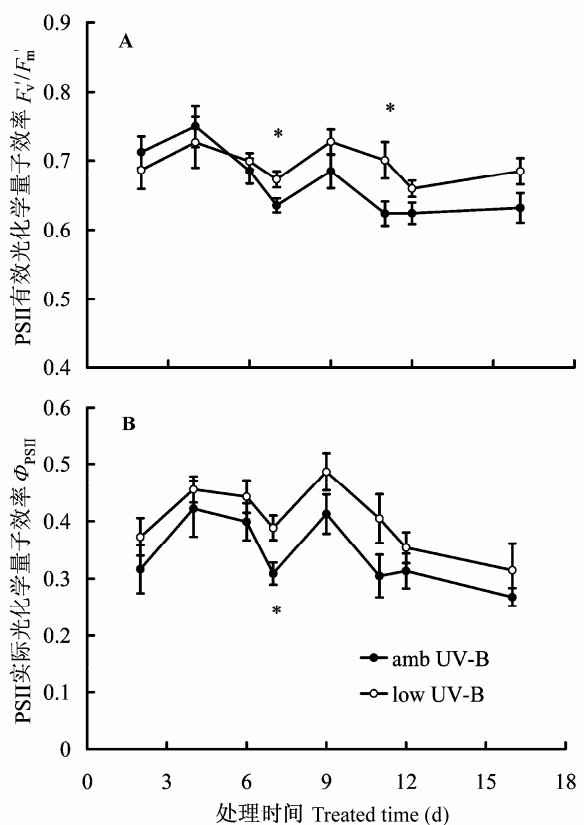


图3 2008年8月滤除自然光中UV-B辐射成分处理对美丽风毛菊叶片稳态PSII光化学效率的影响。垂直条表示标准误差。*, $p < 0.05$ 。

Fig. 3 Effects of removal of UV-B components from natural sunlight on light adapted photochemistry efficiency of PSII in *Saussurea superba* in August 2008. F_v'/F_m' , photochemical efficiency of PSII in the light; Φ_{PSII} , actual photochemical efficiency of PSII. Vertical bar is SE. *, $p < 0.05$.

n 分别为10、4、16、15、9、5、5和4) (图3B)。

2.4 滤除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

q_P 与 Φ_{PSII} 的变化趋势相同(p 分别为0.102 9、0.194 8、0.230 9、0.014 0、0.148 2、0.201 8、0.491 9和0.608 2; n 分别为10、4、16、15、9、5、5和4)，表明滤除自然光中的UV-B成分后，质体醌(Q_A)的还原程度明显降低(图4A)。 NPQ 的变化与 F_v'/F_m' 相反，除试验初期的第2天和第4天的两次测定(p 分别为0.431 2和0.627 9; n 分别为10和4)外，low UV-B处理时美丽风毛菊叶片的 NPQ 均比amb UV-B对照的低(p 分别为0.405 3、0.0221 2、0.156 1、0.038 2、0.098 7和0.135 7; n 分别为16、15、9、5、5和4) (图4B)。

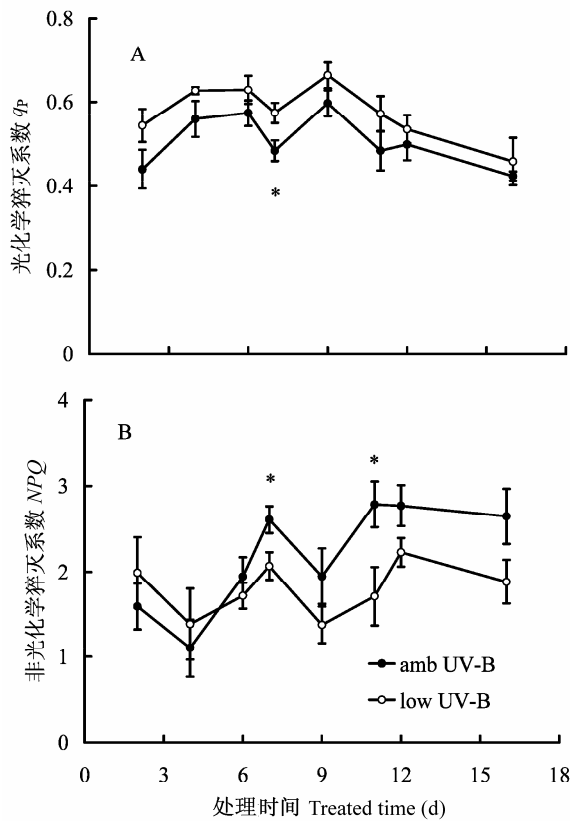


图4 2008年8月滤除自然光中UV-B辐射成分处理对美丽风毛菊叶片光化学和非光化学猝灭系数的影响。垂直条表示标准误差。*, $p < 0.05$ 。

Fig. 4 Effects of removal of UV-B components from natural sunlight on photochemical and non-photochemical quenching coefficient in *Saussurea superba* in August 2008. NPQ, non-photochemical quenching; q_p , the coefficient of photochemical quenching. Vertical bar is SE. *, $p < 0.05$.

2.5 滤除UV-B辐射处理对美丽风毛菊叶片光合色素的影响

表2表明, 尽管叶片光合色素的含量(分别用单位叶片面积和单位叶片鲜重表示)都没有达到显著性差异水平, 但与对照amb UV-B相比, low UV-B处理后美丽风毛菊叶片中光合色素含量均有升高的趋势; 叶绿素a和叶绿素b的比值Chl a/b以及类胡萝卜素和总叶绿素的比值Car/Chl也都略有升高的趋势。

2.6 滤除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

2008年8月, 在美丽风毛菊叶片光合色素取样浸提的同时, 进行了UV-B吸收物质含量的取样分析。图5为酸化甲醇提取物的紫外扫描结果, 其中每一曲线均为9个测定样本的平均值。测定表明, 无论以单位叶片面积(图5A)还是以叶片鲜重(图5B)为基础, 成熟叶片的UV-B吸收物质在对照amb UV-B和low UV-B处理之间都没有差异。

3 讨论

与采用UV-B荧光灯管进行增补UV-B辐射强度的模拟试验(UV-B-supplementary experiment)一样, 滤除自然光谱中UV-B辐射的试验(UV-B-exclusion experiment)也是野外模拟UV-B研究时常采用的途径(Flint *et al.*, 2003)。在UV-B滤除试验中常用选择性过滤薄膜分别最大限度地滤除和透过自然光谱

表2 2008年8月滤除自然光中UV-B成分处理对美丽风毛菊叶片光合色素的影响(平均值±标准误差, $n = 15$; $p = 0.05$)

Table 2 Effects of removal of UV-B component from natural sunlight on photosynthetic pigment contents in *Saussurea superba* in August 2008 (mean ± SE, $n = 5$; $p = 0.05$)

		amb UV-B	low UV-B	差异显著性 Significant
叶绿素a Chl a	mg·g ⁻¹ (FW)	1.068 1 ± 0.029 1	1.117 9 ± 0.094 8	0.645
	μg·cm ⁻² (leaf area)	0.034 4 ± 0.000 8	0.038 8 ± 0.003 6	0.304
叶绿素b Chl b	mg·g ⁻¹ (FW)	0.324 7 ± 0.011 6	0.337 3 ± 0.024 1	0.655
	μg·cm ⁻² (leaf area)	0.010 5 ± 0.000 4	0.011 7 ± 0.000 9	0.276
总叶绿素 Chl a+b	mg·g ⁻¹ (FW)	1.392 9 ± 0.040 1	1.455 2 ± 0.118 7	0.637
	μg·cm ⁻² (leaf area)	0.044 8 ± 0.001 2	0.050 5 ± 0.004 5	0.297
类胡萝卜素 Car	mg·g ⁻¹ (FW)	0.312 4 ± 0.011 9	0.335 3 ± 0.039 5	0.599
	μg·cm ⁻² (leaf area)	0.010 1 ± 0.000 5	0.011 7 ± 0.001 5	0.363
Car/Chl a+b		0.224 5 ± 0.008 3	0.228 4 ± 0.010 1	0.784
Chl a/b		3.292 3 ± 0.046 5	3.305 1 ± 0.052 8	0.861

Car, carotenoid; Chl, chlorophyll. FW, fresh weight.

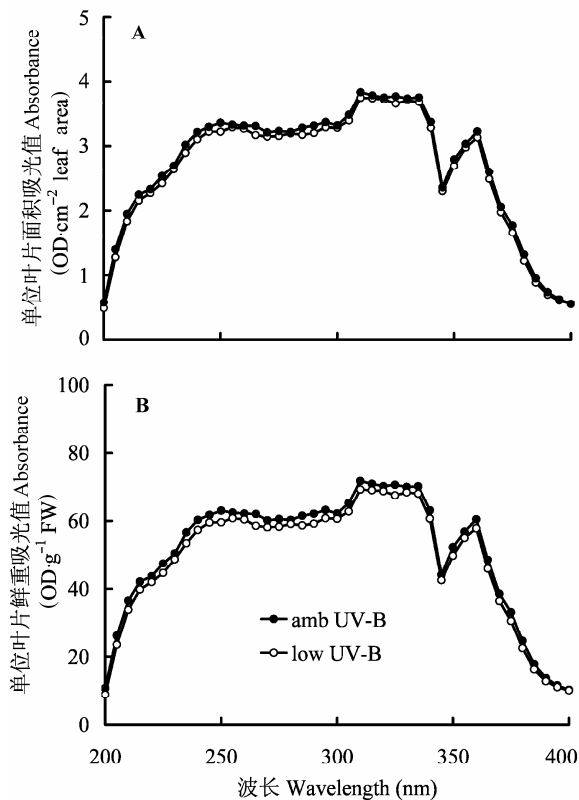


图5 2008年8月滤除自然光中UV-B辐射成分处理对美丽风毛菊叶片中紫外线吸收物质的影响。

Fig. 5 Effects of removal of UV-B components from natural sunlight on UV-B-absorbing compounds in *Saussurea superba* in August 2008.

中的UV-B波段,而对其他波段如可见光和红外部分的减弱很小且相同,以确定植物对环境UV-B辐射强度的生物学响应。这种途径降低了入射到生物有机体的UV-B辐射强度,一般不便于推测臭氧层耗损加剧而导致的近地表面UV-B辐射增强的影响;然而与室内的模拟研究相比,因为具有自然太阳光谱背景的优点,能准确地反映植物对目前自然UV-B辐射的响应和适应特性,同样具有重要的意义(Paul & Gwynn-Jones, 2003; Lau *et al.*, 2006)。由于摆脱了电力供应的限制,过滤膜途径在自然UV-B辐射强度较高且用电不方便的偏远地区(如青藏高原)尤为适用。

由叶绿素基础荧光参数得到的诸多PSII光化学效率参数,是评价光合机构PSII光化学活性的有利工具(张守仁, 1999)。最大光化学效率(F_v/F_m),也称PSII光化学最大量子效率或开放PSII反应中心的能量捕获效率,通常以没有遭受环境胁迫并经过充分

暗适应的叶片进行测定,用于估测植物叶片PSII反应中心的内禀光能转化效率。在胁迫环境中或没有充分暗适应恢复时, F_v/F_m 将不再代表最大意义的光化学效率,而是反映光合机构的光化学活性受抑制后开放PSII反应中心可能具有的能量捕获效率(许大全, 2002)。本文采用暗适应3 min后的PSII光化学量子效率 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 来探测UV-B辐射对叶片光化学效率的影响,一定时间内 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 的相对变化可以用来判定PSII反应中心的失活或损伤程度(Galvez-Valdivieso *et al.*, 2009)。3 min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的快相组分完全恢复,但植物叶片的潜在量子效率尚未能完全恢复,这主要由光合作用光抑制有关的慢相组分以及状态转换的中间相组分所致,尤其对于遭受胁迫的植物叶片(Quick & Stitt, 1989)。图2表明,尽管天气状况不尽相同,连续16天的滤除试验显示amb UV-B处理能引起 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 不同程度的降低,说明高原强自然太阳光中的UV-B成分能影响美丽风毛菊植物的光化学活性。但连续滤除试验时并没有观测到UV-B辐射效应的累积,即没有观测到amb UV-B处理下 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 逐渐降低以及与low UV-B处理间差异渐趋显著的现象,这说明具有较多UV-B成分在内的强太阳短波辐射能引起 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 降低加剧,但对生长在青藏高原恶劣环境中的土著高山植物来讲,这主要是一种PSII反应中心的光失活或光诱导天线猝灭的增加,而非PSII反应中心的光伤害加剧。PSII反应中心是UV-B辐射的敏感位点(van Rensen *et al.*, 2007),受损D1蛋白亚基的降解和祛除以及新D1蛋白亚基的合成都受温度降低的制约(Baker, 1996)。高原地区植物生长季节的多数时间昼夜温差很大,夜间温度常在0 °C以下,但连续amb UV-B和low UV-B处理的美丽风毛菊叶片 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 都没有出现逐渐降低的现象,表明 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 能快速恢复,强太阳光引起的光化学效率降低主要是一种PSII天线蛋白复合体中依赖光的激发能猝灭的弛豫, $F_{(v)}/F_{(m)}$ 的快速恢复显然不可能完全来自PSII反应中心的修复。图2中第1天、第4天和第14天为多云或较阴天的测定,不同天气状况下两处理的 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 差异具有相同的变化趋势,也进一步验证了UV-B辐射的负效应。同时,3个阴天的 $F_{(v)}/F_{(m)}$ 相对较高也表明晴天时强可见光

辐射(通常大于 $1\ 500\ \text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)可诱导光合作用的光抑制甚至光损伤,而自然光谱中的UV-B辐射成分并不是光抑制现象的主要因素。以上结果也说明,高山植物的叶片D1蛋白亚基的光伤害速率和光伤害后PSII复合体的修复速率是相匹配的,因此能维持稳定的有效PSII反应中心复合体组成,反映了高山植物对包括强UV-B辐射在内的高原强太阳短波辐射的适应性。

稳态PSII光化学效率受测定时自然光强的影响较大,故计算时仅挑选了晴天的数据。 Φ_{PSII} 为作用光下的PSII实际光化学量子效率,代表PSII反应中心电荷分离的实际量子效率。 Φ_{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),可快速确定不同光下或其他环境条件下PSII反应中心的作用效率(Baker, 2008)。 q_{P} 表示开放PSII反应中心占总PSII反应中心的比例,为PSII反应中心初级接受体 Q_{A} 氧化还原状态的相对度量,其数值与开放PSII反应中心呈非线性比例,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。 q_{P} 也被称作PSII效率因子(PSII efficiency factor),它将稳态作用光下的 $F_{\text{v}}'/F_{\text{m}}'$ 和 Φ_{PSII} 联系在一起(Baker, 2008)。短期滤除UV-B试验表明,low UV-B处理时 Φ_{PSII} 和 q_{P} 都增高(图3B,图4A),说明自然光中的UV-B成分依然是限制美丽风毛菊叶片光化学效率的一个因素。除第2天和第4天外,low UV-B处理也引起了 $F_{\text{v}}'/F_{\text{m}}'$ 的增加(图3A);与 $F_{\text{v}}'/F_{\text{m}}'$ 变化趋势相反,除第2天和第4天外,low UV-B处理导致了NPQ的降低(图4B)。 $F_{\text{v}}'/F_{\text{m}}'$ 与反映整个光合作用过程的 Φ_{PSII} 不同,仅表示开放PSII反应中心的激发能捕获效率,显然, $F_{\text{v}}'/F_{\text{m}}'$ 也能够用来评估非光化学猝灭对 Φ_{PSII} 变化的贡献(Baker, 2008)。滤除自然光谱中UV-B成分处理时,NPQ以及 $F_{\text{v}}'/F_{\text{m}}'$ 的变化表明,自然光中的UV-B辐射成分能导致非光化学能量耗散的增加。进一步分析可知,除滤除试验的第2天和第4天外,amb UV-B处理的 F_{s} 和 F_{m}' 都相对较低(图表未列),显然 F_{m}' 是引起NPQ以及 $F_{\text{v}}'/F_{\text{m}}'$ 变化的原因。

青藏高原强太阳短波辐射中的UV-B成分能影响美丽风毛菊叶片的 P_{n} (图1),amb UV-B对照叶片 C_{i} 的显著升高意味着可能存在PSII光化学效率的限

制,而非来自叶片 G_{s} 降低引起的气孔限制。Wang等(2010)对武汉莲花湖中最小高等有花植物无根萍(*Wolffia arrhiza*)的不同强度UV-B试验表明,UV-B辐射对光合作用的影响是由于电子传递过程的限制和PSII反应中心的失活,而且这种限制很可能发生在光合机构的多个位点。一般认为PSII能量捕获中心的光化学限制极可能源于UV-B诱导的PSII反应中心D1和D2蛋白亚基的伤害和相关联的Chl a分子和PSII初级电子接受体 Q_{A} 的光氧化(Baker, 1996)。本试验也表明自然环境的强UV-B辐射下稳态光化学效率的降低是影响美丽风毛菊叶片 P_{n} 的一个原因。

2008年8月的试验数据表明,无论以单位叶片面积为基础还是以单位叶片鲜重为基础,low UV-B处理后美丽风毛菊叶片光合色素含量均略有增加的趋势,且以单位叶片面积表示时略微明显(表2)。叶绿素含量的高低在一定程度上能反映植物利用光能及制造有机物的能力。已有的文献中既有UV-B辐射降低光合色素含量的报道(Lizana *et al.*, 2009),也有中性甚至极少数正影响的报道(Middleton & Teramura, 1993)。滤除自然光谱中的UV-B成分处理对美丽风毛菊叶片的光合色素几无影响或略有增加,似乎与2009年7月的测定以及返青期的多数测定并不一致。通常认为较强的UV-B辐射能破坏叶绿体的结构及其前体,或使它的合成受阻,从而降低叶绿素的含量;而叶绿素含量的下降将减少叶片对光的吸收,使植物能免于强辐射的损伤。叶绿素水平对UV-B的响应依赖于植物的发育阶段和环境条件,强UV-B辐射下光合色素的降低可能缘于对光合色素合成过程的限制或(和)它的光氧化作用(Strid & Porra, 1992; Day & Neale, 2002)。8月份海北高寒草甸短暂的无霜期即将结束,高山植物在逐渐频繁的夜间低温的影响下叶片更易衰老,表现为叶尖和叶缘褐斑的出现和叶片枯黄。显然,自然太阳光谱中的UV-B成分加速了这种过程,amb UV-B处理的美丽风毛菊叶片边缘和叶尖常有较多褐斑出现,光合色素含量也趋于降低,说明UV-B辐射能加速细胞成熟和促进衰老过程(Gassi-Lit *et al.*, 1997)。low UV-B处理时Car/Chl和Chl a/b都呈增加趋势(图4B),即自然强UV-B辐射具有潜在的降低Car/Chl和Chl a/b比值的作用,这

与Lizana等(2009)在小麦(*Triticum aestivum*)不同物候期的UV-B试验结果一致。有实验证明, UV-B辐射降低Chl a/b比值与光捕获复合系统(LHC)对PSII和PSI核复合体相对数量的增加有关(Šprtová *et al.*, 2003)。

紫外线B吸收物质(UV-B-absorbing compounds)主要分布在叶片表皮层细胞中, 由类黄酮和衍生多酚组成, 对紫外和近紫外波段内的光辐射有很强的吸收作用, 能阻止高能量光子到达叶片光合机构等敏感部位, 保护叶肉细胞内PSII反应中心蛋白复合体以及生物大分子DNA等免受损伤, 同时UV-B吸收物质也是羟自由基和过氧化氢自由基的有效猝灭剂(Fedina *et al.*, 2006; Lau *et al.*, 2006)。通常认为, UV-B辐射能够促进UV-B吸收物质的生物合成, 对于同一植物, 叶片接受的自然光照越多, 能产生的UV-B吸收物质含量会越高(Beggs & Wellman, 1994; Fedina *et al.*, 2006)。Caldwell和Flint (1994)认为, 相对于植物体形态结构变化以及生长和光合速率的降低, UV-B吸收物质是高等植物响应环境UV-B辐射变化的较敏感指标。然而本研究表明, 短期滤除UV-B辐射处理时, 美丽风毛菊叶片中UV-B吸收物质的含量无论用单位叶片面积还是单位叶片鲜重表示都几乎没有变化(图5)。UV-B辐射能引起PSII反应中心D1蛋白亚基的快速降解, 但在适应UV-B辐射的植物中, 这种降解过程能够被高水平类黄酮部分保护(Fedina *et al.*, 2006)。显然, 长期生长在高原强太阳辐射环境下的高山植物叶表皮层中已具有较高的UV-B吸收物质含量, 能部分滤除或湮灭伴随强太阳光的UV-B辐射, 降低能到达叶片光合机构的UV-B强度。美丽风毛菊具有抵御目前环境中强太阳UV-B辐射伤害的能力, 短期内模拟环境UV-B辐射强度的减低不足以引起其含量的较大变化。高山植物在高原强太阳辐射环境中已健全了适应机制, 成熟叶片中已具有较高含量的UV-B吸收物质, 因此, 即使在滤除UV-B的条件下, 其紫外吸收物质含量仍能保持稳定; 另外这种相对稳定也可能与成熟叶片中UV-B吸收物质的代谢周期较长有关, 高水平的UV-B吸收物质能维持到叶片接近衰老。Jansen等(1998)对不同地理起源的植物*Spirodela punctata*进行了研究, 各生态型的比较表明, PSII反应中心光合活性的维

持和叶片生物量的积累与叶片表皮层中紫外线屏蔽物质的含量和活性氧清除能力的增加并没有很好的联系。UV-B吸收物质的总量在不同植物种和基因型之间有很大的差异, 在很多情况下与作为紫外线屏障的功能相适宜, 高UV-B辐射环境生存的植物其表皮层具有高的紫外滤除能力, 也倾向于较少受UV-B辐射波动的影响(Ziska *et al.*, 1992)。高山植物美丽风毛菊叶片中较高的UV-B吸收物质是保护光合机构及生物大分子如DNA等的重要内部“过滤器”, 对外界UV-B辐射强度的短期波动具有一定的稳定性。通常认为, 植物对UV-B辐射的响应是伤害作用、修复过程和驯化反应的综合平衡结果(Jansen *et al.*, 1998)。

致谢 国家自然科学基金资助项目(30670307、30570270和30170154)和国际科技合作重点项目计划(2002CB714006)资助。瑞典隆德大学教授Lars Olof Björn提供了纤维素双乙酸酯薄膜, 并对试验设计进行了指导, 谨此致谢。

参考文献

- Baker NR (1996). Photoinhibition of photosynthesis. In: Jennings RC, Zucchelli G, Ghetti F, Colombetti G eds. *Light as Energy Source and Information Carrier in Plant Physiology*. Plenum Press, New York. 89–96.
- Baker NR (2008). Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis *in vivo*. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 89–113.
- Beggs CG, Wellmann E (1994). Photocontrol of flavonoid biosynthesis. In: Kendrick RE, Kronenberg GHM eds. *Photomorphogenesis in Plants. Volume 2*. Kluwer Academic, Dordrecht. 733–750.
- Bilger W, Björkman O (1990). Role of the xanthophyll cycle 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 ozonedepletion. In: Rozema J ed. *Stratospheric Ozone Depletion: the Effects of Enhanced UV-B Radiation on Terrestrial Ecosystems*. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands. 21–27.
- Caldwell MM, Flint SD (1994). Stratospheric ozone reduction, solar UV-B radiation and terrestrial ecosystem. *Climate Change*, 28, 375–394.
- Costa H, Gallego SM, Tomaro ML (2002). Effects of UV-B

- radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. *Plant Science*, 162, 939–945.
- Day TA, Neale PJ (2002). Effects of UV-B radiation on terrestrial and aquatic primary producers. *Annual Review of Ecological System*, 33, 371–396.
- Fedina I, Georgieva K, Velitchkova M, Grigorova I (2006). Effect of pretreatment of barley seedlings with different salts on the level of UV-B induced and UV-B absorbing compounds. *Environmental and Experimental Botany*, 56, 225–230.
- 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 filter. *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.
- Gassi-Lit M, Whitecross MJ, Nayudu M, Tanner GJ (1997). UV-B irradiation induces differential leaf damage, ultra-structural changes and accumulation of specific phenolic compounds in rice cultivars. *Australian Journal of Plant Physiology*, 24, 261–274.
- 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.
- 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, McKenzie RL, Caldwell MM, Björn LO (1995). Changes in ultraviolet radiation reaching the earth's surface. *Ambio*, 24, 143–152.
- 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_0' . *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.
- Petropoulou Y, Georgiou O, Psaras GK, Manetas Y (2001). The growth, flower properties and demography of *Anthemis arvensis* exposed to enhanced UV-B radiation. *Plant Ecology*, 154, 59–64.
- Pinto ME, Casati P, Hus TP, Ku MSB, Edwards GE (1999). Effects of UV-B radiation on growth, photosynthesis, UV-B-absorbing compounds and NADP-malic enzyme in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under different nitrogen condition. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 48, 200–209.
- 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.
- Rozema J, Björn LO, Bornman JF, Gaberšček A, Häder DP, Trošt T, Germ M, Klisch M, Gröniger A, Sinha RP, Lebert M, He YY, Buffoni-Hall R, de Bakker NVJ, van de Staaij J, Meijkamp BB (2002). The role of UV-B radiation in aquatic and terrestrial ecosystem—an experimental and functional analysis of evolution of UV-absorbing compounds. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 66, 2–12.
- 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, 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,

- Bornman JF eds. *Environmental UV Radiation: Impact on Ecosystem 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.
- Strid A, Porra RJ (1992). Alterations in pigments content in leaves of *Pisum sativum* after expose to supplementary UV-B. *Plant Cell Physiology*, 33, 1015–1023.
- van Rensen JJ, Vredenberg WJ, Rodrigues GC (2007). Time sequence 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.
- 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 Publishers, 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.

责任编辑: 常 杰 责任编辑: 李 敏