

土壤干旱和强光对高山嵩草叶片PSII反应中心非光化学猝灭的交互影响分析

师生波^{1,2,*}, 李天才¹, 李妙¹, 刘世增², 李爱德², 马剑平²

¹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; ²甘肃省治沙研究所, 甘肃民勤荒漠草地生态系统国家野外研究站, 兰州730070

摘要: 本文采用叶绿素荧光图像分析手段, 研究了土壤干旱对高山嵩草(*Kobresia pygmaea*)叶片PSII非光化学猝灭中光诱导和非光诱导的量子产量的影响, 及其与稳态作用光强的交互效应。结果表明: 土壤干旱胁迫可加剧高山嵩草叶片光合作用的光抑制程度, 引起PSII最大光化学量子效率(F_v/F_m)的显著降低; 高光强下叶片PSII实际光化学量子效率(Φ_{PSII})显著降低, 非光化学猝灭中光诱导的PSII调节性能量耗散量子产量(Φ_{NPQ})则显著增大, 且为干旱胁迫所加剧; 干旱和强光胁迫对非调节性能量耗散量子产量(Φ_{NO})的影响程度相对较小; 非光化学猝灭(NPQ)中快弛豫相组分(NPQ_f)约占2/3, 干旱胁迫可引起NPQ以及NPQ_f和慢弛豫相组分(NPQ_s)的升高。由此可知, Φ_{NPQ} 是高山嵩草响应强光和土壤干旱胁迫的敏捷途径, 高光强下的上调是光胁迫驯化的结果, 也是导致PSII反应中心 Φ_{PSII} 降低的主要原因; NPQ和 Φ_{NPQ} 存在着2种胁迫因子的交互效应, 而 Φ_{PSII} 则无。

关键词: 叶绿素荧光; 交互效应; 光抑制; PSII非光化学猝灭; 土壤干旱胁迫; 高山嵩草

Interaction Effect Analysis of Soil Drought and Strong Light on PSII Non-photochemical Quenching in *Kobresia pygmaea* Leaves

SHI Sheng-Bo^{1,2,*}, LI Tian-Cai¹, LI Miao¹, LIU Shi-Zeng², LI Ai-De², MA Jian-Ping²

¹Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biology, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; ²Gansu Minqin National Studies for Desert Steppe Ecosystem, Gansu Desert Control Research Institute, Lanzhou 730070, China

Abstract: Based on the analysis of chlorophyll fluorescence imaging in *Kobresia pygmaea* leaves, the quantum yield of quenching due to light-induced processes (Φ_{NPQ}) and non-light-induced processes (Φ_{NO}) in PSII non-photochemical energy dissipation (NPQ), and its fast and slow relax component of NPQ (NPQ_f and NPQ_s) were explored, and the interaction effect of soil drought and strong light was analyzed. The results indicate that soil drought stress could cause severe photosynthetic photoinhibition, and cause a significant induction in the maximum quantum efficiency of PSII photochemistry (F_v/F_m). With the increase of actinic light intensity, PSII actual photochemical efficiency (Φ_{PSII}) decreased and Φ_{NPQ} increased, these tendencies could be imposed by soil drought stress, and Φ_{NO} exhibited only small variation. NPQ_f was the main compound with ratio of 2/3 in NPQ, and both NPQ_f and NPQ_s were enhanced after soil drought stress. The results demonstrate that Φ_{NPQ} could quickly response to drought and strong light stress in alpine plant *K. pygmaea*, and was the main reason of variation of Φ_{PSII} to both stress factors; PSII non-photochemical quenching and light-induced compounds were exacted interaction effects between soil drought and light intensity, and depress of Φ_{PSII} with increasing of light intensity did not imposed by soil drought stress.

Key words: chlorophyll fluorescence; interaction effect; photoinhibition; PSII non-photochemical quenching; soil drought stress; *Kobresia pygmaea*

收稿 2015-07-30 修定 2015-10-04

资助 青海省自然科学基金(2013-Z-915)和国家自然科学基金(30670307)。

致谢 青海省青海大学-清华大学三江源高寒草地生态系统野外观测站为本实验提供的便利条件及王伟、德科加、张明在田间日常管理中给予的协助; 甘肃省治沙研究所常兆丰研究员在数据统计分析方面给予的帮助。

* 通讯作者(E-mail: sbshi@nwipb.cas.cn; Tel: 0931-7606125)。

青藏高原是世界上最高的高原,有“世界屋脊”和“第三极”之称,平均海拔在4 000 m以上。这里环境恶劣,生长季内极端气候如低温、疾风、强辐射等时有发生,高山植物经常处于非生物胁迫引起的生理性干旱状态。此外,受青藏高原大陆性气候的影响,在早春和晚秋季节,整个高原面上寒冷且少雨,土壤干旱现象较为明显。土壤干旱作为干旱胁迫的一种形式,是环境胁迫的重要内容,可直接引起植物体的水分亏缺,影响植物的许多生理代谢过程(朱成刚等2011),是植物体生长发育过程中最具威胁性的逆境之一。

高山嵩草(*Kobresia pygmaea*)为青藏高原及喜马拉雅山区草甸带的建群种,属莎草科(Cyperaceae)嵩草属多年生草本植物,具密丛型根茎,生活力强。作为青藏高原地区高寒草甸重要的优势种(李以康等2010),高山嵩草具有较高的营养价值,在可利用草场中占有较大的比重,且具有耐低温、干旱、践踏和水土侵蚀等优良特性,对维持稳定的区域生态环境具有重要意义(王亚军等2005;王启基等2008)。高山嵩草植株矮小且叶片呈线性,能有效地减少植物体的受风面积,同时能起到保温、保水、降低蒸腾的作用,可以避免寒冷造成的生理干旱和强烈的昼夜温差造成的损伤(姜罡丞和贾晓红1999)。然而,由于受高原独特生境和矮小植株构型的限制,有关高山嵩草的诸多工作仅局限在分布格局(王文颖等1998;王长庭等2004)、繁殖策略(李希来等2003;高新中等2008)和物候特征(孙步功等2007)等方面,其高原极端环境下生理生态适应性方面的工作尚少有报道。

高山嵩草主要分布在青藏高原海拔3 800~4 500 m的地带,从3 000 m的低斜坡到5 960 m的高地都有分布,显示了典型高山植物对高原环境的成功适应性(Miehe等2008)。青藏高原地区空气压低,大气透明度高,能到达地表的太阳光辐射很强。普遍认为,除用于植物的光合作用外,光合机构吸收的太阳光能更多处于过剩状态(师生波等2011),必须通过有效的途径予以安全耗散(Tikkanen等2014; Yamori等2014; Lima Neto等2014)。非光化学猝灭过程,如热耗散引起的叶绿素荧光产额的降低,被认为是植物体内光合量子效率调节的重要方面(许大全2002),是叶片光合机构过剩

激发能耗散的主要途径(Bilger和Björkman 1990; Govindjee 2002; Niyogi和Truong 2013)。非光化学猝灭过程对叶绿体能量状态的改变较为敏感,环境胁迫常引起非辐射能量耗散的增强(Niyogi和Truong 2013)和光系统II反应中心(photosystem II, PSII)能量转化效率的下降(Sáez等2013)。非光化学猝灭引起的能量耗散增强可有效清除PSII反应中心过剩激发能的堆积,是植物体维持光合机构有效运行的一种保护策略,但这种非辐射能量耗散增强引起的光抑制本身也涉及PSII反应中心的保护和伤害2种机理(许大全2002)。土壤干旱胁迫下强光引起的高山嵩草叶片实际光化学量子效率(Φ_{PSII})的降低是否会进一步加剧?非光化学猝灭途径中保护和伤害两种机理的平衡是否会产生变化?土壤干旱胁迫是否会加重强光对植物叶片PSII光化学和非光化学猝灭能力的影响?目前尚缺乏对此类问题的深入探讨。本文借助叶绿素荧光图像分析系统(CF imager),采用图像分割的方法研究了高山嵩草叶片PSII的非光化学能量分配特性,探讨了土壤干旱胁迫下高山嵩草PSII反应中心的光诱导和非光诱导的非光化学猝灭保护机理,及其与强光胁迫的交互效应。结果将有助于青藏高原典型高山植物的生理生态学适应性研究,以及加深对高山嵩草的分布格局等问题的理解。

材料与方法

1 试验样地及植物材料

试验样地位于青海大学-清华大学三江源高寒草地生态系统野外观测站附近,地处青海省玉树州称多县珍秦镇214国道716 km处,地理坐标为33°24'N 97°18'E,海拔4 270 m;气候为典型高原大陆性气候,年平均气温-5.6~3.8℃,年均降水量562.2 mm,年度降水主要分布在植物生长季的6~9月,约占全年降水的75%;土壤为高山草甸土,腐殖质含量丰富,但分解不良,因而土壤的有效肥力不高;土壤pH值为6.92,有机质含量2.36%,速效氮14.0 mg·L⁻¹,其中氨态氮5.1 mg·L⁻¹,硝态氮8.9 mg·L⁻¹,速效磷17.0 mg·L⁻¹,速效钾76.5 mg·L⁻¹。

试验区草地类型为高山嵩草(*Kobresia pygmaea* Clarke)杂类草草甸,草场主要优势牧草是高山嵩草,次优势种有矮嵩草(*Kobresia humilis*

Clarke)、异针茅(*Stipa aliena* Keng.)、波伐早熟禾(*Poa poophagorum* Bor.)、珠芽蓼(*Polygonum viviparum* L.)、雪白萎陵菜(*Potentilla nivea* L.)、乳白香青(*Anaphalis lactea* Maxim.)、高山唐松草(*Thalictrum alpinum* L.)等;伴生植物有羊茅(*Festuca ovina* L.)、垂穗披碱草(*Elymus nutans* Keng)、滇藏紫菀[*Aster tsarungensis* (Griers.) Ling]、美丽风毛菊(*Saussurea superba* Anth.)、蒙古蒲公英(*Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz.)等;不食杂类草和毒杂草有甘肃棘豆(*Oxytropis kansuensis* Bge.)、华丽龙胆(*Gentiana sino-ornata* Balf.)、狼毒(*Stellera chamaejasme* L.)、钩腺大戟(*Euphorbia sieboldianum* Morr. et Decne.)、甘肃马先蒿(*Pedicularis kansuensis* Maxim.)、独一味[*Lamiophlomis rotata* (Benth.) Kudo]等。试验区高山嵩草杂类草草甸在暖季无家畜牧利用。

高山嵩草为根茎密丛型多年生草,多生长在海拔3 200~5 400 m的高山灌丛草甸和高山草甸,在青藏高原及喜马拉雅山区常为草甸带的建群种,生活力很强,能忍耐低温寒冷的气候,对高原强太阳辐射和土壤干旱有较强的抗性。

2 试验设置和处理

试验设立在青海大学-清华大学三江源高寒草地生态系统野外观测站区附近的高山嵩草杂类草草甸。在该草场选择地势平坦的样地3块,每个样地挖取15 cm×15 cm的草皮2块,厚度约20 cm。仔细剔除草皮层上夹杂的其他植物种,并维持高山嵩草处于自然生长状态;用塑料胶带密封草毡层的4边后,其中一块放回原位,设为对照组;另一块集中安置在邻近开阔地面的支架上,木板支架距离地面约40 cm,为干旱处理组。

试验开始于2014年8月28日。原位保持的对照组草皮块每日喷洒少量水,维持草甸处于潮湿状态;干旱处理组草皮块每晚移入遮雨棚内,以隔绝夜间降雨。干旱处理持续7 d,期间多为晴天间有夜雨。9月2日起连续3 d每天10:00左右依次取干旱组和对照组草皮块进行室内叶绿素荧光图像分析。9月4日试验结束后,剥取草皮块较中部土壤测定含水量。干旱处理组和对照组土壤的相对含水量分别为(5.20±1.44)%和(25.75±1.25)%,两者呈极显著差异。

3 叶绿素荧光参数的测定

采用英国产CF-imager叶绿素荧光图像分析仪(Chlorophyll Fluorescence Imager, Technologica Ltd., UK)。依据实验设计编写预置运行程序,在暗室内测定暗适应及稳态作用光强下各植株叶片的叶绿素荧光图像,并进行解析。测定期间室内空气温维持在(20±1.5)℃,且室内空气湿度相对恒定。

3.1 测定程序

准确暗适应15 min期间,每隔5 min测定1次PSII反应中心关闭状态时的最小叶绿素荧光产率(F_0)和PSII反应中心处于开放状态的最大叶绿素荧光产量(F_m);设200、800、1 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 低、中、高3个光照强度,依次开启稳态作用光强,每个光强持续照光处理15 min,每间隔5 min测定一次最大荧光产率(F_m')和稳态荧光产率(F_s);关闭稳态作用光,在植株准确暗恢复3、6、9 min时,分别测定 F_0 和 F_m^r 。测定 F_m 、 F_m' 和 F_m^r 的饱和脉冲光为6 840 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,脉冲频率为60 ms。

3.2 植株叶片定位及图像解析

在荧光图像的图形编辑框中,定位并分割高山嵩草完整叶片,解析各叶片图像为荧光产率数值。共获取24枚叶片的荧光数据作为一次测定的重复。具体操作步骤见CF Imager使用手册。

3.3 PSII反应中心的光化学效率和过剩激发能的猝灭分析

暗适应叶片的PSII最大光化学量子效率(F_v/F_m)分别以准确暗适应5、10和15 min时的最小叶绿素荧光产率(F_0)和最大叶绿素荧光产量(F_m)计算,其中 $F_v=F_m-F_0$ 。200、800、1 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 低、中、高光强度下的 F_0' 以Oxborough和Baker (1997)经验公式估算: $F_0'=F_0/(F_v/F_m-F_0/F_m')$,其中 F_0 和 F_m 均采用15 min暗适应的叶绿素荧光产率。

稳态作用光下 Φ_{PSII} 依照Genty等(1989)公式计算: $\Phi_{\text{PSII}}=(F_m'-F_s)/F_m'$ 。叶绿素荧光猝灭的非光化学猝灭系数(NPQ)依照Bilger和Björkman (1990)的公式计算: $\text{NPQ}=F_m/F_m'-1$ 。PSII反应中心的开放比率 q_L 用Baker (2008)的方法估算, $q_L=[(F_m'-F_s)/(F_m'-F_0')]\times(F_0'/F_s)$ 。PSII反应中心非调节性能量耗散的量子产量(Φ_{NO})和调节性能量耗散的量子产量(Φ_{NPQ})分别由下式计算(Kramer等2004): $\Phi_{\text{NO}}=1/[\text{NPQ}+1+q_L\times(F_m/F_0-1)]$; $\Phi_{\text{NPQ}}=1-\Phi_{\text{PSII}}-1/$

$[NPQ+1+q_L \times (F_m/F_o-1)]$ 。

3.4 非光化学猝灭的组分分析和光合作用的光抑制判定

参照Maxwell和Johnson (2000)公式分别计算非光化学猝灭的快弛豫相(NPQ_f)和慢弛豫相(NPQ_s)组分: $NPQ_s = (F_m - F_m^r) / F_m^r$; $NPQ_f = (F_m / F_m^r) - (F_m / F_m^r)$, 式中 F_m 选用15 min暗适应的荧光产率, F_m^r 为暗适应恢复3 min时的荧光产率。光合作用的光抑制程度依据Dodd等(1998)的方法估计, 即光合作用相对光抑制: $P_{(inh)} = 100 \times [1 - (F_v^r / F_m^r) / (F_v / F_m)]$, 其中 $F_v = F_m - F_o$, $F_v^r = F_m^r - F_o^r$ 。

4 数据分析

自然干旱处理的第5天开始室内叶绿素荧光图像测定。本文选用第7天的成组测定数据进行分析。此时草毡表层的干旱状态较为明显, 但高山嵩草仍未呈现出明显的受损迹象, 仅个别植株叶片略呈显著的发黄趋势。

用SPSS 16.0软件进行统计分析, 采用独立样本t检验法比较干旱和对照叶片间的差异显著性; 不同处理光强和不同照光时间之间的差异采用单因素方差分析(one-way ANOVA)的最小显著差异法(LSD)进行多重比较, 显著性水平设定为 $\alpha=0.05$; 不同光强和干旱胁迫间交互效应分析采用一般线性模型单变量方差分析法(GLM univariation)。用Microsoft Excel软件制图, 图中数据以平均数表示, 垂直条表示标准偏差(SD)。各荧光参数的样本数均为24, 其差异显著性见文中和图标示。

实验结果

1 土壤干旱胁迫对高山嵩草PSII最大光化学量子效率的影响

土壤干旱胁迫可加剧PSII反应中心光化学效率的光抑制程度。图1表明, 干旱胁迫引起PSII最大光化学量子效率(F_v/F_m)的降低; 随暗适应时间的延长, 干旱胁迫组高山嵩草叶片的 F_v/F_m 呈现极微小的增加趋势, 因而与对照组的差异也由极显著($P<0.01$)逐渐转变为不显著($P>0.05$)。说明, 土壤干旱胁迫加剧的光抑制在一定程度上依然表现为光合机构的可逆失活。

2 稳态作用光下PSII反应中心激发能的光化学和非光化学量子效率分配

通过PSII反应中心耗散的所有激发能可分为

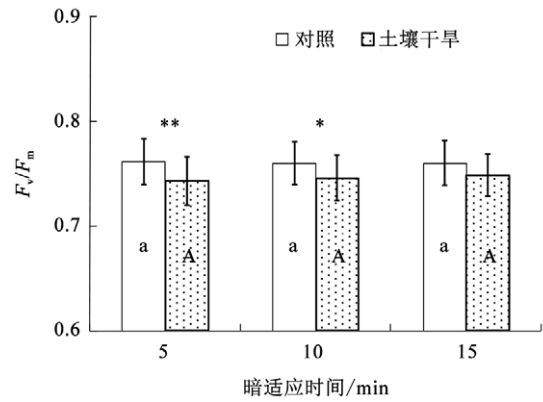


图1 高山嵩草叶片PSII反应中心最大光化学量子效率(F_v/F_m)对土壤干旱胁迫的响应及在不同暗适应时间的变化

Fig.1 Response of maximum quantum efficiency of PSII photochemistry (F_v/F_m) to soil drought stress and its variations with dark adaptation time in *K. pygmaea* leaves

不同小写字母和大写字母分别为对照和土壤干旱胁迫组植物在不同时间 F_v/F_m 的差异显著性($P<0.05$)。*: 对照和土壤干旱处理间呈显著性差异($P<0.05$); **: 对照和土壤干旱处理间极显著性差异($P<0.01$)。

光化学和非光化学两个途径(Kramer等2004)。PSII实际光化学量子效率(Φ_{PSII})在低、中、高3个作用光强间的差异显著, 且干旱胁迫均可引起 Φ_{PSII} 的极显著降低($P<0.01$) (图2-A)。非光化学猝灭中光诱导的 Φ_{NPQ} 的变化与 Φ_{PSII} 相反(图2-C)。随作用光强的增大, Φ_{NO} 在土壤干旱条件下呈显著降低趋势, 而对照组 Φ_{NO} 在 $800 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 中等光强下则显著较高(图2-B); 仅与中等光强相比时, $1500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 高光强均引起了对照和干旱胁迫组 Φ_{NO} 的显著降低, 其降低程度分别为9.25%和13.50%, 说明 Φ_{PSII} 的变化主要缘于 Φ_{NPQ} 对光强和土壤干旱胁迫的响应, 土壤干旱胁迫下高山嵩草叶片的光胁迫驯化能力有所提高。

本文仅以 $800 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 中等光强的测定过程为例, 分析了稳态作用光辐照期间不同时段叶绿素荧光量子效率的变化。表明, 经15 min稳态作用光辐照后, 对照和干旱胁迫处理高山嵩草叶片PSII光化学和非光化学猝灭的量子产量变幅较小。5 min时, Φ_{PSII} 略低, 且对照组 Φ_{PSII} 显著低于10和15 min的测定值(图3-A); 光诱导的 Φ_{NPQ} 在3个时间段的测定值均没有差异(图3-C); 随作用光辐照时间的延长, 非光诱导的 Φ_{NO} 呈降低趋势, 且15 min时的 Φ_{NO} 显著低于5 min的(图3-B)。平均而言, $800 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 中

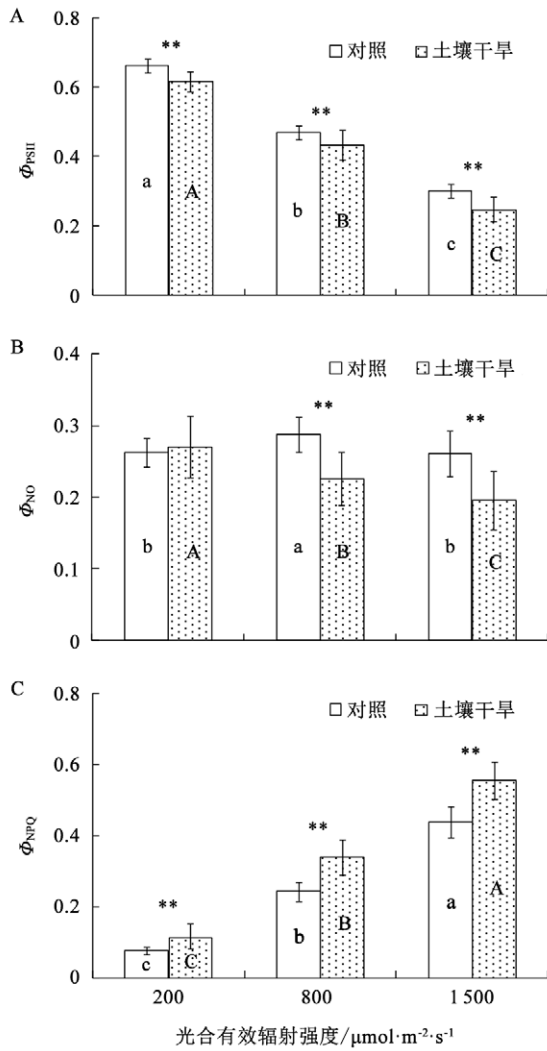


图2 稳定作用光强和土壤干旱胁迫对PSII实际光化学量子效率(Φ_{PSII})、非调节性能量耗散量子产量(Φ_{NO})和调节性能量耗散量子产量(Φ_{NPQ})的影响

Fig.2 Effects of light intensity and soil drought on PSII actual photochemical quantum efficiency (Φ_{PSII}), the quantum yield of quenching due to non-light-induced processes (Φ_{NO}) and light-induced processes (Φ_{NPQ}) in *K. pygmaea* leaves

不同小写字母和大写字母分别为同一处理下不同光强间叶片 Φ_{PSII} 、 Φ_{NO} 和 Φ_{NPQ} 的显著性差异($P < 0.05$)。**: 对照和土壤干旱处理间呈极显著性差异($P < 0.01$)。

等光强下, Φ_{PSII} 、 Φ_{NO} 、 Φ_{NPQ} 三者之间的比例大致为4:3:3; 而200和1 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 低、高光强下, Φ_{PSII} 、 Φ_{NO} 、 Φ_{NPQ} 的比例大致分别为6:3:1和3:2:5 (图表未列)。

3 干旱胁迫对非光化学猝灭组分的影响

经低、中、高3个连续稳态作用光强的辐照, 共历时45 min后, 再次予以3 min暗适应恢复。采用

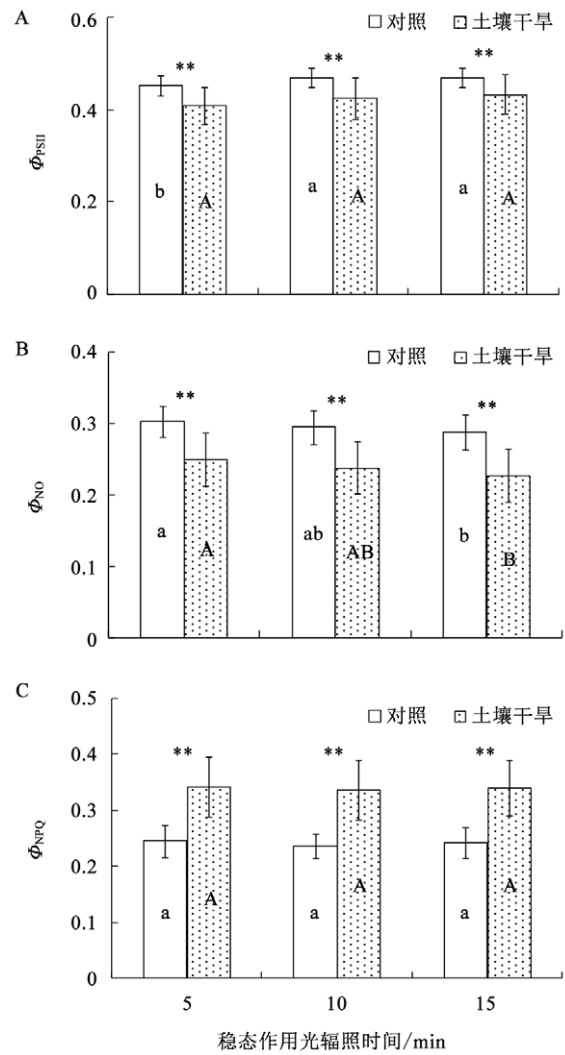


图3 Φ_{PSII} 、 Φ_{NO} 和 Φ_{NPQ} 随不同稳态作用光辐照时间的变化
Fig.3 Variations of Φ_{PSII} , Φ_{NO} and Φ_{NPQ} with illuminated times in *K. pygmaea* leaves

不同小写字母和大写字母分别为同一处理下不同时间段 Φ_{PSII} 、 Φ_{NO} 和 Φ_{NPQ} 的显著性差异($P < 0.05$)。**: 对照和土壤干旱处理间呈极显著性差异($P < 0.01$)。

准确暗弛豫3 min后的 F_m^r , 以及稳态作用光辐照前15 min暗适应的 F_m , 分析了非光化学猝灭的NPQ_f和NPQ_s。结果表明, 对照组中, NPQ_f和NPQ_s分别占PSII非光化学猝灭NPQ的71.08%和28.92%; 而NPQ_f和NPQ_s在土壤干旱胁迫组分别占NPQ的71.39%和28.61%; 且干旱胁迫处理后NPQ_f和NPQ_s分别较对照植物高1.68和1.65倍(图4)。说明, 快相组分是PSII反应中心非光化学猝灭的主要成分; 土壤干旱胁迫引起了非光化学猝灭快慢相组分的等量增加。

4 光合作用的光抑制现象分析

参照Dodd等(1998)的估计方法, 分析了暗弛豫3、6、9 min各时间段时PSII反应中心最大光化学效率(F_v/F_m)与稳态作用光辐照前经15 min暗适应后 F_v/F_m 的相对变化(图5)。结果表明, 随暗弛豫时间的延长, 对照和干旱胁迫组高山嵩草叶片的 $P_{(inh)}$ 有减轻的趋势, 对照组植物依次显著降低, 干旱胁迫组的第6和9分钟也显著低于3 min的 $P_{(inh)}$; 干旱胁迫组高山嵩草叶片的 $P_{(inh)}$ 极显著高于对照组的, 其恢复能力低于对照组植物, 说明强光诱导的光合机构的光抑制更多表现为可逆失活; 土壤干旱胁迫能加剧高山嵩草光合作用的光抑制程度。

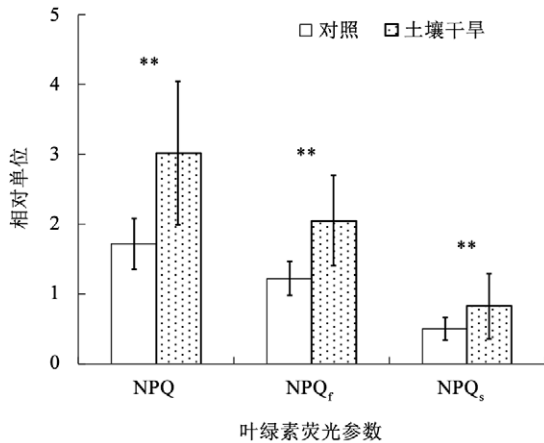


图4 土壤干旱胁迫对高山嵩草叶片PSII非光化学猝灭(NPQ)及快慢弛豫相组分(NPQ_f和NPQ_s)的影响

Fig. 4 Effect of soil drought on PSII non-photochemical quenching coefficient (NPQ) and its fast and slow compounds (NPQ_f and NPQ_s) in *K. pygmaea* leaves

**：对照和土壤干旱处理间呈极显著性差异($P<0.01$)。

讨论

1 非辐射能量耗散途径对高山嵩草叶片光合机构有效运行的保护

PSII反应中心的非辐射能量耗散是光合机构消除过剩激发能的主要途径(Bilger和Björkman 1990; Govindjee 2002; Niyogi和Truong 2013)。强光和干旱胁迫可导致 Φ_{PSII} 的降低, 以及NPQ的增高, 反映了植物对环境胁迫的一种积极调整。研究表明, NPQ易受多种环境因素的影响, 胁迫环境下叶片气孔的关闭将阻断CO₂到O₂的电子流, 导致PSII反应中心能量转化效率的下降(Sáez等2013),

影响暗反应碳同化过程对同化力(ATP和NADPH)累积的需求, 表明叶绿体能量状态的改变是决定非光化学猝灭过程的关键因素。

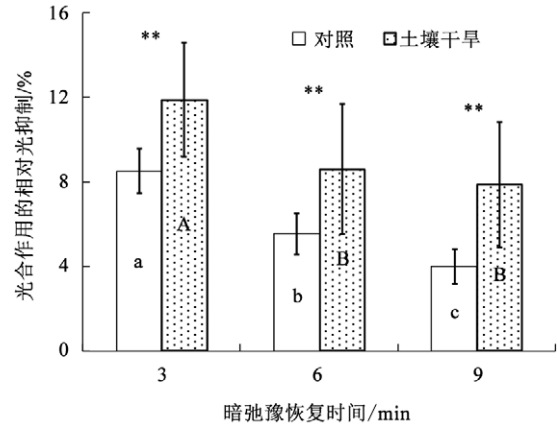


图5 土壤干旱胁迫对高山嵩草叶片光合作用相对光抑制 [$P_{(inh)}$]的影响

Fig.5 Effect of soil drought on relative photosynthetic photoinhibition [$P_{(inh)}$] in *K. pygmaea* leaves

不同小写字母和大写字母分别为对照和土壤干旱胁迫在不同时间段 $P_{(inh)}$ 的显著性差异($P<0.05$)。**：对照和土壤干旱处理间呈极显著性差异($P<0.01$)。

土壤干旱胁迫可加剧光合机构的光抑制程度(贾虎森等2000; 张仁和等2010), 对青藏高原的土著植物高山嵩草而言, 这种光抑制更多表现为可逆失活(图1); 土壤干旱胁迫下这种光抑制程度会更加显著(图5), 此结论与许大全(2002)的早期论断一致。干旱胁迫可加剧强光下 Φ_{PSII} 的降低程度(图3A), 引起NPQ的增加(图4), 强光和干旱胁迫下, 植物体内基质类囊体膜上PSII反应中心多呈失活状态, 失活的PSII反应中心与光捕获天线色素一起可参与对过剩激发能的耗散, 保护有功能反应中心免受多余光能伤害(Maxwell和Johnson 2000; Murchie和Niyogi 2011), 是植物体积极应付外界环境胁迫的一种主动调节过程(Baker 2008)。通常几分钟之内的暗弛豫被认为是一种光保护过程(photoprotective process), 而将较长时间尺度(可持续到几个小时)的暗弛豫视为光抑制(photoinhibition); 而光抑制本身也涉及PSII反应中心的保护和伤害2种机理(许大全2002)。本文参照Maxwell和Johnson(2000)的方法将PSII反应中心的NPQ分为快弛豫(NPQ_f)和慢弛豫(NPQ_s)2部分。可以看出, 与高山

植物唐古特大黄(*Rheum tanguticum*)和唐古特山莨菪(*Anisodus tanguticus*)的研究结果类似(师生波等2007),高山嵩草的PSII非光化学能量耗散中, NPQ_f 也是主要组分,可占NPQ的70%以上。本研究中土壤干旱胁迫引起了非光化学猝灭组分 NPQ_f 和 NPQ_s 的等量增加,似乎意味着高山嵩草叶片中保护和伤害2种机理的同等增加。

基于Lake模型的PSII反应中心激发能分配的量子效率分析表明,除 Φ_{PSII} 的光化学猝灭外,反映竞争性非辐射热能耗散的非光化学猝灭的激发能通量还可分为2部分,即PSII调节性能量耗散的量子产量 Φ_{NPQ} 和PSII非调节性能量耗散的量子产量 Φ_{NO} (Kramer等2004)。 Φ_{NPQ} 表示光诱导可调节过程(down-regulatory process), Φ_{NO} 则表示非光诱导的其他能量散失(Bake和Rosenqvist 2004; Baker 2008)。 Φ_{NPQ} 和 Φ_{NO} 从PSII反应中心的调节性光保护能量耗散和难以调节耗散2方面分析了PSII天线色素捕获光能的归宿。较高的 Φ_{NPQ} 意味着光合机构吸收的光强更多处于过剩状态,但植物仍可以通过调节性热耗散机制消除过剩激发能的潜在伤害,因此 Φ_{NPQ} 可作为光保护能量耗散的重要指标; Φ_{NO} 升高,则意味着光化学能量转换和保护性的调节机制不足以耗散光合机构的光能吸收,此时植物体可能已经在承受光伤害,或持续光照将会导致植物光合机构的永久损伤,即不可逆失活(Kramer等2004; Takahashi等2010)。

由图3-A和C可知,强光和干旱胁迫可引起高山嵩草叶片 Φ_{PSII} 的降低,以及 Φ_{NPQ} 的增加,说明胁迫条件下PSII反应中心的光化学效率受到了抑制,与此同时非光化学猝灭中光诱导的PSII反应中心能量耗散将迅速上调,以抵御由于PSII光化学反应降低引起的过剩激发能增加,是植物体光合机构适应胁迫环境的一种积极调解方式。

PSII反应中心的光化学和非光化学猝灭所需的平衡时间很短,15 min稳态作用光期间 Φ_{PSII} 和 Φ_{NPQ} 很稳定;但非调节性能量耗散量子产量 Φ_{NO} 则略显降低趋势,反映了光合机构在稳定光环境中的细微驯化适应(Baker 2008)。稳态作用光辐照期间,高山嵩草 Φ_{NO} 的这种逐渐降低可能与PSII反应中心能驯化并部分移除过剩激发能堆积有关,从而维持胁迫环境下植物体光合机构的光化学和非

光化学反应正常运行。此现象似乎与我们早期对拟南芥的观察结果不尽相同(未发表资料),可能与植物种的特性有关,也可能是高山植物胁迫驯化的结果。

2 土壤干旱胁迫和光强的交互效应分析

土壤干旱胁迫是否会加剧强光对植物叶片PSII光化学和非光化学猝灭能力的影响?单变量方差分析表明, Φ_{PSII} 在光强和土壤干旱胁迫间没有交互效应,即强光引起的PSII光化学量子效率降低并没有因为干旱胁迫的存在而加重;而PSII反应中心非光化学猝灭NPQ和光诱导的PSII反应中心调节性能量耗散 Φ_{NPQ} 存在着2种胁迫因子的交互效应。表1表明,两环境因子中,光强通常是影响叶绿素荧光参数的主要因素;但 Φ_{NO} 例外, η^2 值表明,干旱胁迫对其总变异的贡献较大,而光强度的贡献较小,也进一步证实了其非光诱导的特性。 Φ_{NO} 作为非光诱导的非调节性能量耗散过程,受光照强度变化的影响较小,其值取决于 Φ_{PSII} 和 Φ_{NPQ} 的相对变化,范围在0.20~0.29之间(图2-B)。对照组高山嵩草在 $800 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 中等光强时, Φ_{NO} 显著较 $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 低光强和 $1500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 高光强的要高,这与近期高原春小麦光响应曲线的研究结果有类似之处(李妙等2015),说明适宜环境中生长的植物体缺乏抵御多变环境的能力,即植物体的耐性较低。在有土壤干旱胁迫时,随光强度的增加, Φ_{NO} 依次显著降低,显然与较高耐性的高山嵩草光合机构的光驯化适应有关;图3-B中 Φ_{NO} 随辐照时间的延长也呈下降趋势,也进一步证实了这种光驯化适应的存在。

土壤干旱胁迫是否会加剧强光下植物叶片的PSII实际光化学量子效率的降低?是否会强化PSII非光化学猝灭能力的增加?表1的结果表明, Φ_{PSII} 几乎不存在两胁迫因子间的交互效应,即强光引起的PSII实际光能捕获效率的降低并不会因为土壤干旱胁迫的存在而加重;而NPQ和 Φ_{NPQ} 则存在着2种胁迫因子的交互效应;当然,交互效应对总变异的相对贡献仍然小于光强和土壤干旱胁迫的贡献。

高山嵩草属典型寒冷中生植物,地上部低矮,株高仅1~3 cm;叶片线形,宽约1 mm,长不足3 cm,这些形态学特征能有效地减少植物体的受风面积,同时还能保温、保水、降低蒸腾,避免生理干旱

表1 光强和土壤干旱胁迫处理间叶绿素荧光参数的交互效应分析

Table 1 Interaction effect analysis of light and soil drought on chlorophyll fluorescence parameters

	对照-土壤干旱			稳态作用光强			对照-土壤干旱×稳态作用光强		
	F	显著性	η^2	F	显著性	η^2	F	显著性	η^2
NPQ	69.595	0	0.335	172.208	0	0.714	13.977	0	0.168
Φ_{PSII}	82.945	0	0.375	1 843	0	0.964	0.949	0.39	0.014
Φ_{NO}	48.905	0	0.262	16.622	0	0.194	17.525	0	0.203
Φ_{NPQ}	158.03	0	0.534	1 205	0	0.946	13.314	0	0.162

表中F为均方比, η^2 为因子对总变异的贡献。

的发生。高山嵩草具有非常发达的地下根状茎,与土壤形成致密的草根盘结层,厚度可达10 cm以上,有助于提高植株的水分吸收和利用效率。同时,高山嵩草叶片气孔分布在远轴面,密度较高且多下陷,反映了对高原低压、寒冷气候的适应性(姜罡丞等1999;赵庆芳等2007)。除植物体构型的适应外,高山嵩草叶片的光合机构也反映出对强光和土壤干旱胁迫的适应特性,表现为:土壤干旱胁迫可加剧高山嵩草光合机构的光抑制程度,但由于PSII反应中心的非光化学猝灭存在着2种胁迫因子的交互效应,土壤干旱胁迫下强光引起的光合作用光抑制程度的加剧可以通过光合机构的非光化学猝灭途径予以缓解,强稳态作用光引起的PSII光化学量子效率的降低并没有因为干旱胁迫的存在而加剧。非光化学猝灭组分中PSII调节性能量耗散的量子产量 Φ_{NPQ} 具有较快调节作用,在强光下显著增大,是高山嵩草应答强光和土壤干旱胁迫的敏捷响应;光诱导的 Φ_{NPQ} 为非辐射热能耗散的诱导组分,强光环境中 Φ_{NPQ} 的上调是光胁迫驯化的结果,光胁迫驯化适应能力在存在土壤干旱胁迫时会得到增强,表现为随光强度的增加和辐照时间的延长 Φ_{NO} 逐渐降低。

参考文献

高新中,李希来,马桂花,马桂祥(2008). 不同退化高寒草甸矮嵩草和
高山嵩草无性系繁殖规律. 草业与畜牧, (1): 7~10
 贾虎森,李德全,韩亚琴(2000). 高等植物光合作用的光抑制研究
 进展. 植物学通报, 17 (3): 218~224
 姜罡丞,贾晓红(1999). 不同海拔高度上的嵩草属三个种营养器官
 显微结构的比较. 河南大学学报(自然科学版), 29 (1): 63~68
 李妙,师瑞,陈文杰,师生波,张怀刚(2015). 青藏高原3个地方春
 小麦品种旗叶PSII光化学效率的光响应分析. 西北植物学报,
 015, 35 (3): 563~570
 李希来,杨元武,张静,牛周羊杰(2003). 不同退化程度“黑土滩”高

山嵩草克隆生长特性. 草业学报, 12 (3): 51~56
 李以康,林丽,张法伟,梁东营,王溪,曹广民(2010). 小嵩草群
 落——高寒草甸地带性植被放牧压力下的偏途顶级群落. 山
 地学报, 28 (3): 257~265
 师生波,李和平,王学英,李惠梅,韩发(2007). 高山植物唐古特山莨
 菎和唐古特大黄对强太阳辐射光能的利用和耗散特性. 植物
 生态学报, 31 (1): 129~137
 师生波,尚艳霞,朱鹏锦,杨莉,张波(2011). 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.
 植物生态学报, 35 (7): 741~750
 孙步功,龙瑞军,王长庭(2007). 青藏高原冷龙岭南麓高寒小嵩草草
 甸植物种群群落学候学研究. 草业科学, 24 (8): 16~20
 王启基,李世雄,王文颖,景增春(2008). 江河源区高山嵩草(*Kobresia
 pygmaea*)草甸植物和土壤碳、氮储量对覆被变化的响应.
 生态学报, 28 (3): 885~894
 王文颖,王启基,邓自发(1998). 青海海北地区高山嵩草草甸植物群
 落的结构特征及其分布格局. 植物生态学报, 22 (4): 336~343
 王亚军,魏兴琥,杨萍(2005). 超载放牧对那曲地区高山嵩草草甸植
 被退化的影响. 兰州大学学报(自然科学版), 41 (1): 32~38
 王长庭,龙瑞军,丁路明(2004). 青藏高原高寒嵩草草甸基本特征的
 研究. 草业科学, 21 (8): 16~19
 许大全(2002). 光合作用效率. 上海: 上海科学技术出版社
 张仁和,郑友军,马国胜,张兴华,路海东,史俊通,薛吉全(2011). 干
 旱胁迫对玉米苗期叶片光合作用和保护酶的影响. 生态学报,
 31 (5): 1303~1311
 赵庆芳,崔艳,马世荣,李巧峡,王刚(2007). 青藏高原东部嵩草属植
 物叶解剖结构的生态适应研究. 广西植物, 27 (6): 821~825
 朱成刚,陈亚宁,李卫红,付爱红,杨玉海(2011). 干旱胁迫对胡
 杨PSII光化学效率和激能耗散的影响. 植物学报, 46 (4):
 413~424
 Baker NR (2008). Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthe-
 sis in vivo. Annu Rev Plant Biol, 59: 89~113
 Baker NR, Rosenqvist E (2004). Application of chlorophyll fluores-
 cence and improve crop production strategies: an examination of
 future possibilities. J Exp Bot, 55 (403): 1607~1621
 Bilger W, Björkman O (1990). Role of the xanthophyll cycle
 protoprotection elucidated by measurements of light-induced
 absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves
 of *Hedera canariensis*. Photosynth Res, 25: 173~185
 Dodd IC, Critchley C, Woodall GS, Stewart GR (1998). Photoinhibi-
 tion in differently coloured juvenile leaves of *Syzygium* species.
 J Exp Bot, 49 (325): 1437~1445

- Genty B, Briantais JM, Baker NR (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim Biophys Acta*, 990: 87~92
- Govindjee (2002). A role for a light-harvesting antenna complex of Photosystem II in photoprotection. *Plant Cell*, 14 (8): 1663~1668
- Kramer DM, Johnson G, Kiirats O, Edwards GE (2004). New fluorescence parameters for the determination of Q_A redox state and excitation energy fluxes. *Photosynth Res*, 79: 209~218
- Lima Neto MC, Lobo AKM, Martins MO, Fontenele AV, Silveira JAG (2014). Dissipation of excess photosynthetic energy contributes to salinity tolerance: a comparative study of salt-tolerant *Ricinus communis* and salt-sensitive *Jatropha curcas*. *J Plant Physiol*, 171: 23~30
- Maxwell K, Johnson GN (2000). Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *J Exp Bot*, 51 (345): 659~668
- Miehe G, Miehe S, Kaiser K, Liu JQ, Zhao XQ (2008). Status and dynamics of the *Kobresia pygmaea* ecosystem on the Tibetan plateau. *AMBIO*, 37 (4): 272~279
- Murchie EH, Niyogi KK (2011). Manipulation of photoprotection to improve plant photosynthesis. *Plant Physiol*, 155: 86~92
- Niyogi KK, Truong TB (2013). Evolution of flexible non-photochemical quenching mechanisms that regulate light harvesting in oxygenic photosynthesis. *Curr Opin Plant Biol*, 16: 307~314
- Oxborough K, Baker NR (1997). Resolving chlorophyll *a* fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and non-photochemical components – calculation of qP and Fv'/Fm' without measuring Fo' . *Photosynth Res*, 54: 135~142
- Sáez PL, Bravo LA, Latsague MI, Toneatti MJ, Sánchez-Olate M, Ríos DG (2013). Light energy management in micropropagated plants of *Castanea sativa*, effects of photoinhibition. *Plant Sci*, 201-202: 12~24
- Takahashi S, Milward SE, Yamori W, Evans JR, Hillier W, Badger MR (2010). The solar action spectrum of photosystem II damage. *Plant Physiol*, 153: 988~993
- Tikkanen M, Mekala NR, Aro EM (2014). Photosystem II photoinhibition-repair cycle protects Photosystem I from irreversible damage. *Biochim Biophys Acta*, 1837: 210~215
- Yamori W, Hikosaka K, Way DA (2014). Temperature response of photosynthesis in C_3 , C_4 , and CAM plants: temperature acclimation and temperature adaptation. *Photosynth Res*, 119: 101~117