

文章编号:1001-4810(2014)01-0077-05

干旱和复水对喀斯特石生反叶扭口藓(*Barbula fallax* Hedw.) 叶绿素荧光特性的影响*

——以贵阳市花溪区附近严重石漠化区域为例

张显强^{1,2,3}, 王世杰², 孙敏³

(1. 贵州警官职业学院, 贵州 贵阳 550005; 2. 中国科学院地球化学研究所/环境地球化学国家重点实验室, 贵州 贵阳 550002;
3. 西南大学生命科学学院/三峡库区生态环境与生物资源省部共建国家重点实验室, 重庆 400715)

摘要:为在喀斯特石漠化生态恢复治理中科学选择抗旱植物材料提供依据, 本文以贵阳花溪区附近石漠化区为例, 利用快速叶绿素荧光动力学技术研究了干旱和复水对石生反叶扭口藓(*Barbula fallax* Hedw.) 叶绿素含量和荧光特性变化的影响, 探讨了石漠化干旱环境与石生藓类光合特征的关系。结果表明: 反叶扭口藓随干旱胁迫的增加, 叶绿素含量总体呈出先降低后升高的趋势; 叶绿素荧光参数 F_o 、 qN 上升, F_m 、 F_v/F_m 、 $Yield$ 、 ETR 、 qP 都随干旱胁迫的加剧而下降; 在胁迫时间较短复水后(24 h)叶绿素荧光参数(F_o 、 F_m 、 F_v/F_m 、 $Yield$ 、 qP 、 qN)基本恢复到对照水平, 超过 24 h 造成胁迫程度的加重则无法恢复到对照水平。

关键词:反叶扭口藓(*Barbula fallax* Hedw.); 干旱胁迫; 复水; 叶绿素荧光

中图分类号: Q945.11 文献标识码: A

0 引言

苔藓植物是最低等的高等植物, 其形态矮小而被人们忽视, 但许多苔藓植物有着特殊的生理生态适应机制, 可以在高寒、高温、极度干旱和弱光等其它陆生植物难以生存的环境中生长繁衍^[1]。

耐旱苔藓有一套生理上的协调机制以保持光合结构的完整性, 能在脱水情况下保持叶绿素水平和光合色素的活性^[2]。国外学者利用叶绿素荧光技术分别研究了不同种的藓类^[3-4]和苔类^[5-6]在脱水和复水过程中叶绿素荧光的变化。其中研究最为清楚的是美洲山墙藓 *Tortula ruralis*, 已成为研究耐旱藓类生理生态和抗旱机理的模式植物^[7-8]。Csintalan 等(2000)对干湿交替下 3 种苔藓叶绿素荧光的分析结果表明, 在一定的相对含水量范围内苔藓植物叶绿素荧光参数相对恒定; 当干旱时, 叶绿素荧光参数 F_m 、

F_v/F_m 、 qN 、 $\Phi PS II$ 随着水分丧失而下降; 复水后 F_v/F_m 和 $\Phi PS II$ 值能在较短时间内逐渐恢复正常水平^[9]。国内衣艳君(2007)研究脱水过程中毛尖紫萼藓(*Grimmia pilifera* P. Beauv.)的 F_v/F_m 、 ET_o/ABS 、 ET_o/ER_o 、 $Area$ 和 RC/CS_o 均存在较低的相对含水量阈值, 说明毛尖紫萼藓光合机构有相当强的耐脱水能力, 能随着干旱环境将植物体内的含水量降得很低, 以休眠的状态生存^[1]。

在我国干旱半干旱地区广泛分布着大量的耐旱藓类, 作为喀斯特地貌广布的贵州, 至今未见干旱胁迫及复水下苔藓光合特征变化的相关研究。在喀斯特石漠化地区石生反叶扭口藓分布广泛, 研究其对干旱的适应性和复水后的叶绿素荧光变化, 探讨其对喀斯特石漠化环境变化的光合生理响应具有重要的意义。本文以贵阳市花溪区附近石漠化区域为例, 研究干旱胁迫及复水对石生反叶扭口藓光合生理特性的

* 基金项目: 三峡库区生态环境与生物资源省部共建国家重点实验室培育基地开放基金项目(SKL-2010-03)

第一作者简介: 张显强(1976-), 男, 博士, 博士后, 副教授, 主要从事喀斯特环境生态研究。E-mail: zhangxianqiang@126.com。

通讯作者: 王世杰, 研究员, 博士生导师。E-mail: wangshijie@vip.skleg.cn。

收稿日期: 2013-11-07

影响,以期为喀斯特石漠化地区生态恢复治理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究材料

供试反叶扭口藓(*Barbula reflexa* Brid.)采自贵阳市花溪区附近严重石漠化区域,苔藓呈丛集型生长在岩石的表面,是喀斯特石漠化地区常见的优势藓类。

1.2 材料培养及处理

用 1/10 Hoagland 培养液进行喷洒培养,一周后选择生长一致的配子体插入带有圆孔大小合适的聚乙烯薄板中。由于植物细胞原生质层具有选择透过性,原生质层内外的溶液存在着浓度差,水分子就可以从溶液浓度低的一侧通过原生质层扩散到溶液浓度高的一侧。PEG-6000 水溶性好,在溶液中不分解为离子,在实验过程中可以保持均一水势,是理想的水势调节剂,因此本实验以之作为载体。实验中将带有材料的薄板置于装有 -2.0 Mpa PEG-6000 配制溶液的培养皿上,并使材料下端浸入溶液而上端与空气接触。PEG-6000 渗透势测定参照 Michel 和 Kaufmann 的方法^[10]。试验处理分为:

(1)对照:1/10 Hoagland 溶液培养;

(2)处理:1/10 Hoagland + PEG-6000(-2.0 Mpa)溶液培养。

于处理后的 0 h、12 h、24 h、48 h、72 h 和分别复水 24 h 后进行各指标测定。

1.3 研究方法

1.3.1 光合色素的测定

采用包维楷的方法^[11]。剪取苔藓样品生长末梢适量,淘去泥沙,去除杂质,晾干表面水分,剪碎(约 2 mm 左右)混合均匀。每个样品称取 0.2 g 左右,作 5 个重复,分别放入研钵中,加少量石英砂和碳酸钙及 2~3 mL 95%乙醇,研磨成匀浆,再加乙醇 10 mL,继续研磨至组织变白。静置 3~5 min。过滤到 25 mL 棕色容量瓶中,并用少量乙醇冲洗数次,直至滤纸和残渣中无绿色为止,最后用 95%乙醇定容至刻度,比色测定色素,以 95%乙醇为空白。光合色素提取过程均在弱光和 4℃低温条件下进行。在 665 nm、649 nm 和 470 nm 下测定吸光度。

按如下公式计算其浓度:

样品比色液叶绿素(Chla)含量($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) = $13.95A_{665} - 6.88A_{649}$;

样品比色液叶绿素(Chlb)含量($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) =

$24.96A_{649} - 7.32A_{665}$;

样品比色液类胡萝卜素(Car)含量($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) = $(1000 \text{OD}_{470} - 2.05 \text{Chla 含量} - 114.8 \text{Chlb 含量}) / 245$;

样品色素含量($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) = $\rho \times V \times N / m \times 1000$
式中: ρ 为样品比色液色素含量($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); V 为提取液体积(mL); N 为稀释倍数; m 为样品鲜重或干重(g);1000为提取液体积 mL 换算成 L 的系数。

1.3.2 叶绿素荧光活性测定

将不同处理藓类配子体放在样品室内暗适应 30 min,用 PAM-2100(Walz,德国)便携式脉冲调制式叶绿素荧光仪测定各标记配子体的初始荧光(F_0)、最大光化学量子产量(F_v/F_m)、光化学猝灭系数(qP)、非光化学猝灭系数(qN)、 $rETR$ (电子传递速率)、 $Yield$ (实际光合效率)等荧光参数。其中 $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$; $qP = (F'_m - F_t)/(F'_m - F'_0)$; $qN = (F_m - F'_m)/F_m - F'_0$; $\Phi PS II = (F'_m - F)/F'_m$; $ETR = \Phi PS II$ (光系统 II) $\times PAR$ (光合有效辐射强度) $\times 0.84 \times 0.5$ 。重复 6 次,取其平均值。涉及到的参数物理意义:可变荧光(F_v)、最大荧光(F_m)、实时荧光产量(F_t)、光下初始荧光产量(F'_0)、光下最大荧光产量(F'_m)。

1.4 统计分析

利用 SPSS13.0 进行数据分析处理,Excel 2003 作图。

2 结果与分析

2.1 干旱和复水对反叶扭口藓叶绿素含量的影响

表 1 结果显示,叶绿素 a 含量随胁迫的加大总体呈现出先降低后升高的趋势;叶绿素 b 含量的变化也表现出相同的趋势。就叶绿素 a 而言,反叶扭口藓从初期的 $0.653 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{FW}$ 下降到 12 h 的 $0.515 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{FW}$,之后上升到 $0.917 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{FW}$ 。叶绿素含量的变化趋势可能与胁迫初期光合作用能力暂时下降有关;其次,由于高浓度 PEG-6000 溶液包围在藓体的基部,在苔藓植物茎叶间形成的毛细管系统致使 PEG-6000 随水流动到达藓体的上部然后结晶析出而影响光合作用。在高浓度 PEG-6000 高渗透胁迫处理条件下很多高等维管植物难以存活^[12],但反叶扭口藓依然能够保持一定的光合作用能力,而且从外部形态上观察,植物体均未出现枯萎变黄的现象,证明反叶扭口藓有极强的耐旱能力。

表 1 模拟干旱及复水对反叶扭口藓叶绿素含量的影响

Table 1 The simulated effect on chlorophyll content in *Barbula fallax* Hedw. by PEG drought stress and rehydration

物种	胁迫时间/h	叶绿素 a		叶绿素 b		叶绿素 a+b	
		胁迫	复水	胁迫	复水	胁迫	复水
反叶扭口藓	0	0.653±0.22		0.333±0.12		0.986±0.33	
	6	0.517±0.19	0.652±0.26	0.245±0.09	0.293±0.05	0.810±0.27	0.945±0.29
	12	0.515±0.17	0.692±0.27	0.255±0.07	0.255±0.04	0.770±0.21	0.947±0.25
	24	0.536±0.15	0.711±0.25	0.222±0.06	0.243±0.06	0.758±0.24	0.954±0.33
	48	0.891±0.24	0.669±0.20	0.329±0.11	0.383±0.21	1.220±0.41	1.052±0.19
	72	0.917±0.36	0.676±0.21	0.345±0.10	0.346±0.19	1.262±0.38	1.022±0.28

2.2 干旱和复水下反叶扭口藓叶绿素荧光参数的变化

2.2.1 干旱和复水对反叶扭口藓 F_o 、 F_m 和 F_v/F_m 的影响

初始荧光 F_o 是 PS II 反应中心全部开放即原初电子受体 QA 全部氧化时的荧光水平, PS II 天线色素的热耗散常导致 F_o 降低, 而 PS II 反应中心的破坏或可逆失活则可引起 F_o 的增加^[13-15]。图 1 显示, 随着胁迫时间的延长, 反叶扭口藓的 F_o 持续上升, 而且

在重度胁迫与对照之间差异极显著 ($P < 0.01$)。复水后 F_o 均有所恢复, 但 72 h 重度胁迫不能恢复到正常的水平 ($P < 0.05$)。

F_m 是 PS II 反应中心处于完全关闭时的荧光产量, 其大小反映通过 PS II 的电子传递的能力。随胁迫时间的增加 F_m 呈现出下降的趋势。复水后 F_m 变化趋势与 F_o 一致, 说明胁迫时间越长电子传递受阻越明显(图 1)。

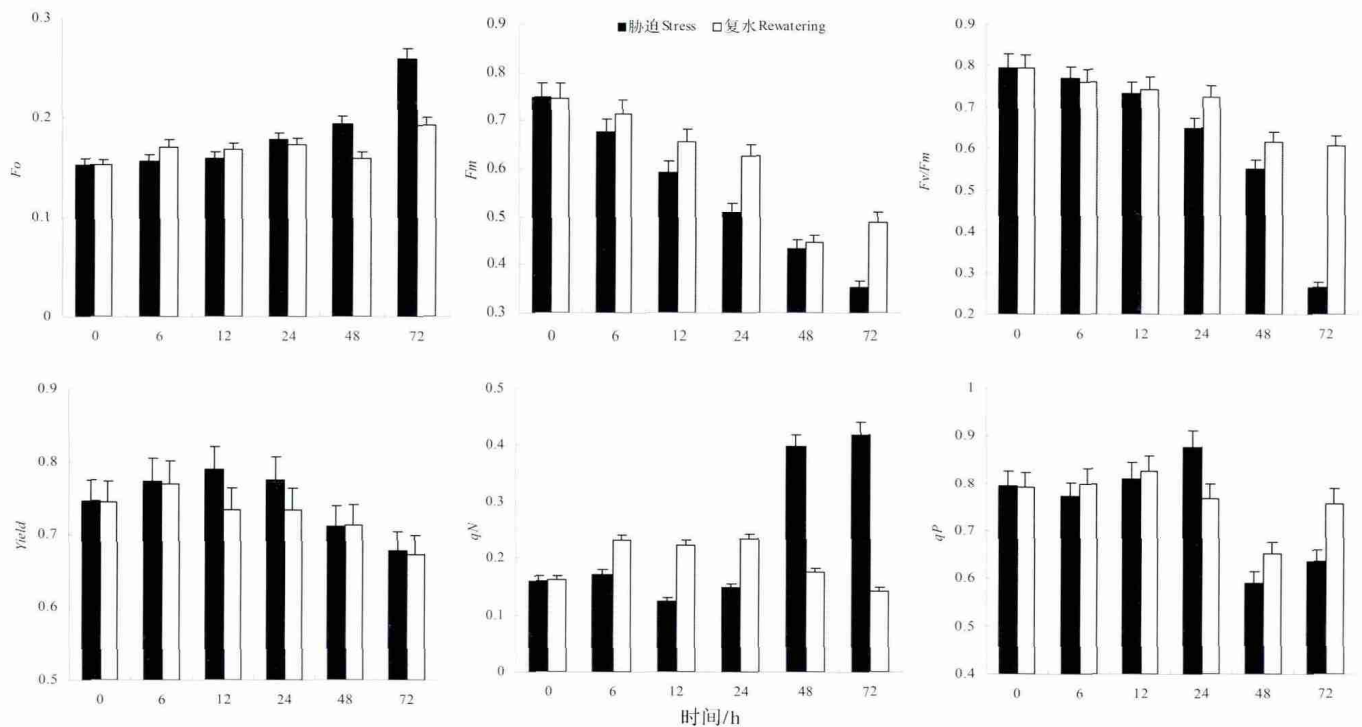


图 1 模拟干旱和复水对反叶扭口藓叶绿素荧光参数的影响

Fig 1 The simulated effect on chlorophyll fluorescence parameters in *Barbula fallax* Hedw. by PEG drought stress and rehydration

F_v/F_m 是最大 PSII 的光能转换效率。可变荧光 (F_v) 与最大荧光 (F_m) 的比值 (F_v/F_m) 反映的是 PS II 原初光能转化效率及 PS II 潜在活性, 是反映光抑制程度的可靠指标。当植物处于非逆境条件下时, 该参数一般为 0.75~0.85 之间^[16-17], 但在逆境或受伤害

时会明显降低^[18]。胁迫初期, 反叶扭口藓 F_v/F_m 缓慢下降; 胁迫逐渐加大, F_v/F_m 数值显著降低, 分别由初始的 0.796 降低至胁迫 72 h 的 0.266 (图 1)。复水后, F_v/F_m 有较大程度的恢复, 从胁迫 72 h 的 0.266 恢复到 0.607, 在复水的过程中出现了超补偿

现象,即 F_v/F_m 略高于相应的处理组。这说明反叶扭口藓恢复程度较高,这主要与植物在逆境下通过暂时降低光合作用原初反应过程来躲避干旱有关,虽受一定的破坏,但干旱解除后能快速恢复。

2.2.2 干旱和复水对反叶扭口藓 PS II 光量子效率 $Yield$ 的影响

$Yield$ 为 PS II 的实际光能转化效率,与 PS II 的活性呈正相关^[15],反映 PS II 反应中心在有部分关闭情况下的实际原初光能捕获效率,可作为植物光合电子传递速率快慢的相对指标^[19]。从图 1 可知,在胁迫初期(12 h 内),反叶扭口藓 $Yield$ 略有上升,之后逐渐下降,说明在干旱胁迫初期会产生适应过程,其光合作用系统能进行自我的修复;胁迫后期 $Yield$ 显著降低($P < 0.05$)。复水初期, $Yield$ 能较大程度地恢复,但均略低于对照($P > 0.05$),48 h 后差异显著($P < 0.05$),说明恢复较为困难。

2.2.3 干旱和复水对反叶扭口藓 qP 和 qN 的影响

光化学淬灭系数 qP 表示 PS II 天线色素吸收的光能用于光化学反应的份额,一定程度上反映了 PS II 反应中心的开放程度;非光化学淬灭系数 qN 反映的是 PS II 天线色素吸收的光能以热的形式耗散掉的部分,热耗散是植物保护 PS II 的重要机制^[20]。反叶扭口藓 qP 开始略有上升,这是适应干旱情况所作出的一种反应,12—48 h 逐步下降,48 h 后略有回升,呈现出先升高、后降低、再升高的趋势。在 6—12 h 复水初期高于对照,产生超补偿效应,之后低于对照水平。 qN 在初期略有升高,之后略有下降,最后急剧升高,重度胁迫比初期升高近 3 倍,差异极显著($P < 0.01$)(图 1)。

3 讨 论

植物对干旱胁迫会产生适应、损伤、修复以及补偿等不同程度的阶段性反应,其生理变化和光合特征均有不同。本实验中,叶绿素含量随胁迫的加大表现出先降低后升高的波动变化趋势,这是植物在逆境下产生的一种“反应—适应”机制。叶绿素荧光可快速检测植物在干旱胁迫下真实的光合作用,是评价光合机构功能和环境胁迫程度的可靠方法。反叶扭口藓各荧光数值表现出不同的变化趋势, F_o 、 qN 表现出上升的趋势, F_m 、 F_v/F_m 、 $Yield$ 、 qP 总体呈现出下降的趋势;说明叶片 PS II 光化学效率的降低限制了反叶扭口藓光合作用的正常进行,而 F_o 数据呈上升的趋势,表明干旱胁迫使反叶扭口藓的光合作用过程受到抑制,且随着胁迫的增加,反叶扭口藓光合结构受到的破坏程度增加。因此,干旱胁迫后复水的叶绿素

荧光特征反映出植物对胁迫的适应能力和保护机制。反叶扭口藓在胁迫时间较短复水后(24 h 内)叶绿素荧光参数(F_o 、 F_m 、 F_v/F_m 、 $Yield$ 、 qP 、 qN)基本恢复到对照水平,随着胁迫程度的加重则无法恢复到对照水平,这揭示了环境条件的改善可使受损的 PS II 反应中心得到一定程度的恢复,若受损过重则会延长恢复时间或无法恢复到正常的水平。

叶绿素荧光可以快速、灵敏、无损伤探测环境胁迫对植物光合作用的影响^[21-22],反映了丰富的光合作用信息。脱水过程反叶扭口藓光合机构有相当强的耐脱水能力,能随环境的干旱而将体内的含水量降得很低,以休眠的状态生存,这与衣艳君的研究结果相似^[1]。轻中度干旱胁迫时间内完全脱水不会对藓类的光合器官造成永久伤害,仍维持在可恢复的光合能力状态,一旦复水,生理代谢活动可以得到迅速的恢复。可见喀斯特区域苔藓植物具有很强的生理耐旱能力,一方面在干燥状态下尽量维持细胞和结构的完整性,减少细胞的损伤和代谢物质的破坏,另一方面在复水过程中启动修复机制^[23],快速修复脱水对光合机构造成的破坏。

4 结 论

(1)反叶扭口藓随干旱胁迫的增加,叶绿素含量总体呈现先降低后升高的趋势,这与光合作用能力受到影响而暂时下降有关。

(2)叶绿素荧光参数随干旱胁迫的加剧而呈现规律性的变化。在胁迫时间较短(24 h)复水后叶绿素荧光参数基本恢复到对照水平,超过 24 h 造成胁迫程度的加重则无法恢复到对照水平。

(3)贵州石漠化区域大量基岩裸露,探讨生长在岩石表面的苔藓植物与干旱的关系,可以为生态系统恢复过程中抗旱植物材料的筛选提供参考。

致 谢:拙作得以完善与提高,无不承蒙于审稿专家和编辑的指导与帮助,对他们的辛勤付出表示由衷的感谢。

参考文献

- [1] 衣艳君,刘家尧. 毛尖紫萼藓 (*Grimmia pilifera* P. Beauv) PS II 光化学效率对脱水和复水的响应[J]. 生态学报, 2008, 27(12): 5238—5244.
- [2] Tuba Z, Proctor C F, Csintalan Z. Ecophysiological responses of homoiochlorophyllous and poikilochlorophyllous desiccation tolerant plants: a comparison and an ecological perspective[J]. Plant Growth Regulation, 1998, 24(3): 211—217.
- [3] Csintalan Z, Proctor M C F, Tuba Z. Chlorophyll fluorescence during drying and rehydration in the mosses *Rhytidiadelphus*

- lozeus (Hedw.) Warnst., *Anomodon viticulosus* (Hedw.) Hook. & Tayl. and *Grimmia pulvinata* (Hedw.) Sm[J]. *Annals of Botany*, 1999, 84(2): 235–244.
- [4] Seel W E, Baker N R, Lee J A. Analysis of the decrease in photosynthesis on desiccation of mosses from xeric and hydric environments[J]. *Physiologia Plantarum*, 1992, 86(3): 451–458.
- [5] Deltoro V I, Calatayud A, Gimeno C, et al. Changes in chlorophyll a fluorescence, photosynthetic CO₂ assimilation and xanthophyll cycle interconversions during dehydration in desiccation-tolerant and intolerant liverworts[J]. *Planta*, 1998, 207(2): 224–228.
- [6] Marschall M, Proctor M C F. Desiccation tolerance and recovery of the leafy liverwort *Porella platyphylla* (L.) Pfeiff.; chlorophyll-fluorescence measurements [J]. *Journal of Bryology*, 1999, 21(4): 257–262.
- [7] Proctor M C F, Smirnoff N. Rapid recovery of photosystems on rewetting desiccation-tolerant mosses; chlorophyll fluorescence and inhibitor experiments[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51(351): 1695–1704.
- [8] Oliver M J, Velten J, Wood A J. Bryophytes as experimental models for the study of environmental stress tolerance: *Tortula ruralis* and desiccation-tolerance in mosses[J]. *Plant Ecology*, 2000, 151(1): 73–84.
- [9] Csintalan Z, Takács Z, Proctor M C F, et al. Early morning photosynthesis of the moss *Tortula ruralis* following summer dew fall in a Hungarian temperate dry sandy grassland[J]. *Plant Ecology*, 2000, 151(1): 51–54.
- [10] Michel B E, Kaufmann M R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000[J]. *Plant physiology*, 1973, 51(5): 914–916.
- [11] 包维楷,冷俐. 苔藓植物光合色素含量测定方法——以暖地大叶藓为例[J]. *应用与环境生物学报*, 2005, 11(2): 235–237.
- [12] 吴玉环,程佳强,冯虎元,等. 耐旱藓类的抗旱生理及其机理研究[J]. *中国沙漠*, 2004, 24(1): 23–29.
- [13] Krall J P, Edwards G E. Relationship between photosystem II activity and CO₂ fixation in leaves[J]. *Physiologia Plantarum*, 1992, 86(1): 180–187.
- [14] Demmig B, Winter K, Krüger A, et al. Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves a possible role of the xanthophyll cycle in the dissipation of excess light energy [J]. *Plant Physiology*, 1987, 84(2): 218–224.
- [15] 宋莉英,孙兰兰,舒展,等. 干旱和复水对入侵植物三裂叶蟛蜞菊叶片叶绿素荧光特性的影响[J]. *生态学报*, 2009, 29(7): 3713–3721.
- [16] 何炎红,郭连生,田有亮. 白刺叶不同水分状况下光合速率及其叶绿素荧光特性的研究[J]. *西北植物学报*, 2006, 25(11): 2226–2233.
- [17] Gray G R, Chauvin L P, Sarhan F, et al. Cold acclimation and freezing tolerance (A complex interaction of light and temperature)[J]. *Plant Physiology*, 1997, 114(2): 467–474.
- [18] 许大全,张玉忠,张荣铎. 植物光合作用的光抑制[J]. *植物生理学通讯*, 1992, 28(4): 237–243.

The drought stress and rehydration influence on chlorophyll fluorescence characteristics of *Barbula fallax* Hedw. in areas of karst rocky desertification: Case study near Huaxi district, Guiyang City

ZHANG Xian-qiang^{1,2,3}, WANG Shi-jie², SUN Min³

(1. Guizhou Police Officer Vocational College, Guiyang, Guizhou 550005, China; 2. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang, Guizhou 550002, China; 3. School of Life Science, Southwest University / State Key Laboratory Breeding Base of Eco-Environments and Bio-Resources of the Three Gorges Reservoir Region, Chongqing 400715, China)

Abstract: Guiyang city is located in the central Guizhou Province, at an average elevation of 1 100 m, annual average temperature 15.2 °C and annual average rainfall of 1 178 mm. The soil in Guiyang is predominately calcareous (accounting for 85 %), whose parent rocks are mainly dolomitic limestone and calcium dolomite. Its forest coverage is 5 %–15 %, the vegetation coverage is 10 %–90 %, the bare rock is 30 %–90 %, the land reclamation is 10 %–70 %, and the average rocky desertification is 36.79 %. Huaxi district in Guiyang is taken as an example for ecological restoration and treatment research, which provides the basis for scientific selection of drought-resistant plants for cultivation in karst rocky desertification areas. Chlorophyll-fluorescence was measured by a handy PAM-2100 fluorometer in moss *Barbula fallax* Hedw. when drought and rehydration affected chlorophyll content and fluorescence under increased drought stress, the total chlorophyll content first dropped, and then increased gradually. F_0 and qN of three kinds of mosses increased while the F_m , F_v/F_m , $Yield$, ETR and qP decreased with drought stress. Fluorescence parameters after rehydration were restored to normal levels by mild to moderate stress, and severe stress is more difficult to return to the control level.

Key words: *Barbula fallax* Hedw.; drought stress; rehydration; chlorophyll fluorescence parameters

(编辑 韦复才)