

DOI: 10.5846/stxb201210251481

李倩, 刘晓, 张晓飞, 张瑞昌, 柴永福, 岳明. UV-B 辐射方向对白三叶克隆整合的影响. 生态学报, 2014, 34(13): 3568-3575.

Li Q, Liu X, Zhang X F, Zhang R C, Chai Y F, Yue M. Effects of UV-B radiation direction on physiological integration in *Trifolium repens*. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(13): 3568-3575.

UV-B 辐射方向对白三叶克隆整合的影响

李 倩^{1,2}, 刘 晓¹, 张晓飞^{1,3}, 张瑞昌¹, 柴永福¹, 岳 明^{1,*}

(1. 西部资源生物与现代生物技术省部共建教育部重点实验室, 西北大学, 西安 710069

2. 陕西省西安植物园(陕西省植物研究所), 西安 710061; 3. 中煤科工集团西安研究院有限公司, 西安 710054)

摘要: 增强 UV-B 辐射会对植物生长和生理生化过程产生有害效应。克隆植物中, 相连的克隆分株对经常共享资源和激素, 然而鲜有关于异质性 UV-B 辐射下 UV-B 辐射方向对克隆整合的影响及克隆植物形态结构变化的报道。模拟同质(克隆分株片段均处于自然背景辐射)和异质(克隆分株一端处于自然背景辐射, 另一端处于补加的 UV-B 辐射)UV-B 辐射, 以克隆植物白三叶为材料, 进行连接和隔断处理, 研究 UV-B 辐射方向对克隆整合强度变化、叶片形态结构特化及生理可塑性的影响。结果表明: 异质性 UV-B 辐射下, ¹⁵N 同位素标记端保留的 ¹⁵N 百分比高于同质 UV-B 辐射处理, 转移到无标记相连端的 ¹⁵N 含量则降低, 紫外辐射处理和同位素标记是否处于同一分株端对结果无显著性影响, 说明克隆植物白三叶生理整合存在但整合强度降低, 辐射方向与克隆整合强度无关; 隔断处理组气孔长度增加, 栅栏组织增厚, 但连接处理组却无此变化, 表明生理整合在白三叶叶片形态结构特化中发挥作用。UV-B 辐射下, 最小荧光、电子传递速率及光化学淬灭系数降低但非光化学淬灭系数升高, 而生理整合却使结果相反; 叶绿素和紫外吸收物可在异质性 UV-B 辐射相连的两端运输分享。以上均表明异质 UV-B 辐射环境中, UV-B 辐射胁迫端克隆分株通过生理整合从非胁迫端获益, 并以此提高胁迫环境中克隆植物对资源的利用效率。

关键词: 克隆整合; 环境异质性; UV-B 辐射; 白三叶

Effects of UV-B radiation direction on physiological integration in *Trifolium repens*

LI Qian^{1,2}, LIU Xiao¹, ZHANG Xiaofei^{1,3}, ZHANG Ruichang¹, CHAI Yongfu¹, YUE Ming^{1,*}

1 Key Laboratory of Resource Biology and Biotechnology in Western China (Northwest University), Ministry of Education, Xi'an 710069, China

2 Xi'an Botanical Garden of Shaanxi Province (Institute of Botany of Shaanxi Province), Xi'an 710061, China

3 Xi'an Research Institute of China Coal Technology & Engineering Group Corp., Xi'an 710054, China

Abstract: Clonal plants are widely distributed in all types of ecosystems, and dominate in many of them. Vascular connections (e.g. stolons or rhizomes) of clonal plants can transport resources such as carbohydrates, water and nutrient between interconnected ramets. This feature has been long considered to be adaptive in all types of ecosystems, particularly in environments where resources or stressful factors are patchily distributed in both time and space. Many studies have shown that the stressed ramets of clonal fragments can be supported by resource translocation from the connected unstressed ramets, for example, clonal integration can alleviate local stress caused by shading, drought, salinity, serpentine soils, mechanical stimulation and sand burial. Ultraviolet-B (UV-B) radiation (280—315 nm) can result in deleterious effects on many plant growth processes because it is strongly absorbed by many macromolecules and causes their conformational changes, especially proteins and nucleic acids. Environmental UV-B radiation is highly variable in spatial and temporal

基金项目: 国家自然科学基金(31070362); 教育部博士点基金(20116101110008); 陕西省科学院青年人才培养项目(2013K-20); 陕西省西安植物园青年人才科研启动支持计划(YK003)

收稿日期: 2012-10-25; **网络出版日期:** 2014-02-25

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yueming@nww.edu.cn

distributions. It is controlled by a great deal of factors, such as changes in the solar elevation with latitude, time of day, season and clouds. Little is still known about the response of physiological integration in clonal plants to heterogeneous ultraviolet-B radiation. In this study, pairs of connected and severed ramets of the stoloniferous herb *Trifolium repens* were grown under the homogeneity (both of ramets received only natural background radiation) and heterogeneity of UV-B radiation (one of the ramet received only natural background radiation and the other was exposed to supplemental UV-B radiation). Changes in intensity of nutrient integration were followed with ^{15}N -isotope labeling of the xylem water transport. Stomata density, length, the thickness of wax, cuticle epidermal cell and palisade tissue were observed to study leaf anatomic characters. The effects of heterogeneous UV-B radiation on chlorophyll fluorescence of a clonal plant *T. repens* were evaluated. In order to assess the patterns of physiological integration contents of chlorophyll and UV-B absorbing compounds were determined. When ramets were connected and exposed to heterogeneous UV-B radiation, the percentage of ^{15}N left in labeled ramets that suffered from enhanced UV-B radiation was higher and their transfer to unlabeled ramets lower. The intensity of physiological integration of *T. repens* for resources decreased under heterogeneous ultraviolet-B radiation in favor of the stressed ramets. Severing groups under UV-B radiation had more closed stomas (according to stomatal length) and the thickness of palisade tissue, results were reversed in connecting groups, indicating physiological integration plays a role in anatomic characters. Additive UV-B radiation resulted in a notable decrease of the minimal fluorescence of dark-adapted state (F_o), the electron transport rate (ETR) and photochemical quenching coefficient (q_p) and an increase of non-photochemical quenching (NPQ) under heterogeneous UV-B radiation, while physiological connection reverse the results. Chlorophyll and UV-B absorbing compounds were shared between connected ramets under heterogeneous UV-B radiation. Ultraviolet-B stressed ramets benefited from unstressed ramets by physiological integration, improving resource efficiency on clonal plants in less favorable sites.

Key Words: physiological integration; environmental heterogeneity; ultraviolet-B radiation; *Trifolium repens*

克隆植物生理整合是指在源-汇关系的驱动下,糖类、营养物质和水分等物质和资源通过匍匐茎或根状茎在克隆分株间进行传输和分享的过程^[1-5]。许多研究表明克隆整合可以使克隆植物跨越并占据尺度不同的生境资源斑块,在胁迫环境下尤为明显^[6-8]。植物生长和繁殖的必需资源(如光照、水分和矿质元素等)以及其所处的环境条件(如温度、湿度、干扰、采食和病原体等)无论在时间上还是空间上都是异质性的,即使在很小的尺度上这种异质性也是存在的^[3,9]。环境异质性作为一种选择压力,使植物在进化过程中可能会形成某种适应对策。例如,有克隆分株相连的野生草莓(*Fragaria vesca*)母株(基株)的光合效率因分株受遮荫和干旱胁迫而增加,这种反应是与源-库假说相一致的反馈调节机制^[10]。Wijesinghe 和 Hutchings 发现生理整合在异质性环境中要比同质性环境更具优势^[4]。近年来有关克隆整合的研究多数集中在生理整合对资源异质性的响应^[5,11],以及对一些胁迫环境异质性的响应,例如盐害、重金属污染、蛇纹岩土壤、病原体等^[12-15],

这些研究表明胁迫端分株生长受损可由无胁迫端分株的生理整合得到补偿,以提高整体适合度,但有关克隆整合对异质性 UV-B 辐射响应的报道很少^[16-17]。

太阳背景辐射中的 UV-B 虽然在光谱中比例不高,但却具有极大的生物学效应,影响植物的生长发育过程。植物细胞中的蛋白质和核酸等大分子吸收 UV-B 辐射,自身分子构象被改变,而且植物还可以通过增加角质层和叶片厚度,提高 UV-B 保护色素的含量来防御 UV-B 辐射的伤害^[18-19]。太阳辐射中的 UV-B 辐射强度无论在时间还是空间上都具有很大的异质性,受到诸如地理纬度、海拔高度、云量、太阳高度角等多种因素的控制^[20]。林下光斑中甚至存在毫秒级的光照强度的变化。

白三叶(*Trifolium repens*)是豆科的多年生克隆植物,其克隆分株间通过匍匐茎相连。白三叶对外界生物和非生物因素表现出高度的可塑性,其变种对增强的 UV-B 辐射敏感^[21]。先前的研究发现异质性 UV-B 辐射下,白三叶水分和 N 生理整合强度降

低;生理指标和光合效率的变化显示 UV-B 辐射胁迫端通过生理整合获益,但这以 UV-B 辐射非胁迫端的损耗为代价^[16-17]。其结论对克隆植物生理整合的认识拓展到光化学和防御整合方面,然而有关异质性 UV-B 辐射下 UV-B 辐射方向及克隆植物形态结构变化鲜有研究。本研究模拟同质和异质 UV-B 辐射,进行两组试验,连接和隔断,来验证以下假设:1) 异质性 UV-B 辐射下,克隆植物白三叶生理整合增强的变化与 UV-B 辐射方向无关;2) 异质性 UV-B 辐射下,克隆植物白三叶形态结构发生特化;3) 异质性 UV-B 辐射下,克隆植物白三叶存在防御性生理整合。

1 材料和方法

1.1 试验材料与设计

供试材料为白三叶(*T. repens* cv. C615),取自西北大学校园内(海拔 397 m,地理位置为 34.3° N, 108.9° E),试验于 2009 年 12 月—2010 年 5 月在西北大学生物园温室内进行。白三叶分株在温室内培养 3 代(减少遗传差异)后,选取大小一致的 36 对克隆分株移至塑料方盆(60 cm 长 × 40 cm 宽 × 20 cm 高)中,塑料盆中土壤基质为沙:有机质:泥炭 = 1:1:2,每周浇水两次。将这些克隆分株对按图 1 分成 6 组,两组同质性 UV-B 辐射处理(A、B),4 组异质性 UV-B 辐射处理(用 PVC 挡板隔开,C 和 D)。其中 A 和 B 组仅接受自然背景辐射,辐射剂量为 $0.6 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$,C 和 D 组处理的一端用 40W 的紫外灯(北京光电源仪器公司)从 9:00—17:00 辐射 1 周,紫外灯周围覆醋酸纤维素膜以滤去 UV-C,补加的辐射剂量为 $2.54 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ (紫外辐照计,北京师范大学光电仪器厂),另一端不进行补加处理。

1.2 测定项目及方法

1.2.1 ^{15}N 同位素标记及测定

2010 年 12 月 16 日,将 4 mL 40 g/L 的尿素溶液(^{15}N 丰度为 10%,购于上海化工研究院)按图 1 所示用毛笔均匀涂抹在白三叶叶子上,1 周后,将克隆分株对从匍匐茎中间剪断、收获,样品在 70 °C 下烘干 48 h,过 < 0.3 mm 筛后进行同位素分析。用改进型 ZHT-203 质谱仪(北京仪器厂)测定样品茎叶中总 N 和 ^{15}N 含量,然后计算出 ^{15}N 的百分比^[22],由于根量太少,将其和茎混合在一起测定。

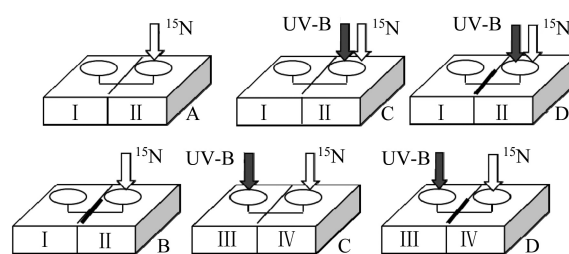


图 1 试验设计

Fig.1 Experimental design

白三叶(*Trifolium repens*)克隆分株对随机分为 6 组,3 组连接处理和 3 组隔断处理;连接处理指克隆分株间通过匍匐茎相连,隔断处理是指 PVC 挡板隔开白三叶克隆分株对;A 和 B 组为同质性 UV-B 辐射,仅接受自然背景辐射,C 和 D 组为异质性 UV-B 辐射,分株一端(II 和 III)补加 UV-B 辐射,另一端不进行补加处理(I 和 IV),接受自然背景辐射

1.2.2 形态结构特化指标测定

2010 年 4 月 12 日,参照 Hirose 等的方法^[23],取一部分样品用 FAA 固定液固定,经系列酒精脱水、透蜡、包埋,常规石蜡切片,切片厚度为 6—10 μm ,番红-固绿双重染色,中性树胶封片,Leica-DMLB 显微镜观察并照相,并应用 Motic Image Plus 2.0 软件在镜下测定蜡质与角质厚度、表皮细胞与栅栏组织细胞大小和厚度。另一部分叶片样品用于叶表皮气孔密度与气孔大小的测定:将叶片近中段连同中脉(便于判断上、下表面)横剪取数段,用沸水浸泡数分钟后,迅即将材料投入冷水浸泡,倾去冷水,加入 5% 次氯酸钠(NaClO)溶液置恒温 40 °C 下约 18—24 h,待材料边缘变白,即可取出撕取上表皮(部位基本一致,约在中脉两侧各 1 cm 范围内),置载玻片上,酒精系列脱水,1% 番红染色,加拿大树胶封片。光学显微镜下观察、测量、计数、照相。气孔密度为随机计数 5 个视野取平均值换算,气孔大小随机测量 10 个气孔长度取平均值及变幅。

1.2.3 生理指标测定

(1) 叶绿素荧光参数测定

2010 年 5 月 20 日,叶绿素荧光参数采用 LI-6400(LI-COR Inc,美国)便携式光合仪叶绿素荧光测定系统测定。选取受光方向一致的叶片(叶片同光合),叶片暗适应 20 min 后,测定初始荧光(F_0)、最大荧光(F_m)和光系统 II 最大光化学效率(F_v/F_m),测定光适应下光合 R 电子传递速率(ETR),光化学猝灭系数(q_p)和非光化学猝灭参数(NPQ)。以

上各项参数的数据测定均进行 5 次重复(试验分组参照图 1)。

(2) 光合色素测定

2010 年 5 月 22 日,称取 0.1 g 叶片,剪成数段放入 50 mL 提取液(1:1 的无水乙醇和丙酮)中,在 25 °C 黑暗条件下提取 24 h,测定提取液在 663 和 645 nm 处的吸光值,叶绿素含量按照李合生的公式计算^[24]。

(3) 紫外吸收物含量测定

2010 年 5 月 22 日,称取 0.5 g 叶片,放入 100 mL 酸性甲醇(甲醇:盐酸:水=79:1:20)溶液中浸提 24 h,测定提取液在 300 nm 处的吸光值,紫外吸收物含量按照 Day 等的方法改进测定^[25]。

1.3 数据分析

采用 STATISTICA 6.0 软件对数据进行单因素方差(ANOVA)处理和 Duncan 多重极差检验,利用 ORIGIN7.5 作图。

2 结果和分析

2.1 异质性 UV-B 辐射下,克隆植物白三叶生理整合程度变化

由图 2 可以看出,异质性 UV-B 辐射处理下,白三叶¹⁵N 同位素标记端留下的¹⁵N 百分比要高于同质性 UV-B 辐射处理,而转移到无标记相连端叶片的¹⁵N 含量则降低,而且无论¹⁵N 同位素标记处于哪个

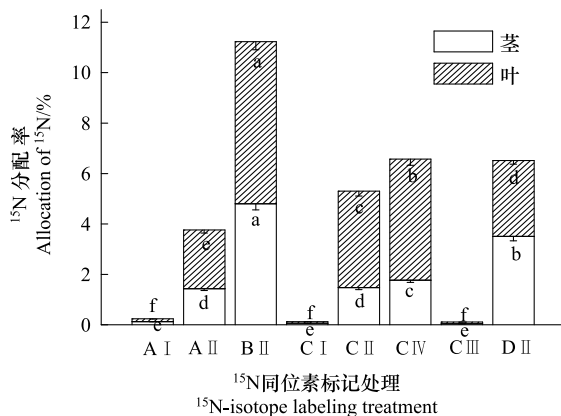


图 2 同质(A, B)和异质(C, D)UV-B 辐射下白三叶不同处理组克隆片段不同组分中¹⁵N 同位素的分配率

Fig.2 Partitioning of ¹⁵N among ramet components within clonal fragments in *Trifolium repens* on different treatment groups for the effects of homogeneous (A, B) and heterogeneous (C, D) UV-B radiation

图中相同字母代表 $P < 0.05$ 时不同处理间差异不显著;可参照图 1 的试验设计

克隆分株端(UV-B 辐射胁迫端或 UV-B 辐射非胁迫端)对结果均无显著性影响,结果说明异质性 UV-B 辐射下,克隆植物白三叶¹⁵N 整合存在但整合强度降低。连接处理中,同质 UV-B 辐射处理下,¹⁵N 标记端叶子中¹⁵N 百分比低于异质 UV-B 辐射处理下¹⁵N 标记端(紫外辐射处理和同位素标记处于同一端称为 C II 处理组,紫外辐射处理和同位素标记处于不同端称为 C IV 处理组, A II 2.33% vs C II 4.8%和 C IV 3.83%),差异达到显著水平($P < 0.05$),而且紫外辐射和同位素标记处于同一端的¹⁵N 含量要低于紫外辐射和同位素处于不同端的处理(C II 3.76% < C IV 6.57%);隔断处理中,同质 UV-B 辐射处理下¹⁵N 标记端¹⁵N 百分比为 6.52%,显著低于异质 UV-B 辐射处理下的 11.63%,同样因为是切断处理, A I 端和 C I 端¹⁵N 含量为 0,在图中不显示。

2.2 异质性 UV-B 辐射下,克隆植物白三叶形态结构特化

从表 1 可以看出,切断处理组中,与同质性 UV-B 辐射处理组相比,异质性 UV-B 辐射处理组克隆植物白三叶叶片气孔长度和栅栏组织厚度增加,但连接处理组结果却无此变化,二者的区别在于白三叶克隆分株间匍匐茎的相连,可能和克隆植物生理整合相关。同质 UV-B 辐射下,气孔密度,气孔长度和表皮细胞厚度均有显著性变化,推断可能是切断处理影响所致。

2.3 异质性 UV-B 辐射下,克隆植物白三叶叶绿素荧光参数的变化

表 2 所示,同质性 UV-B 辐射下,白三叶克隆分株叶绿素荧光参数初始荧光(F_o)、最大荧光(F_m)、光系统 II 的最大光量子产量(F_v/F_m)、光合 R 电子传递速率(ETR)和光化学淬灭系数(q_p)无明显变化,但非光化学淬灭系数(NPQ)在切断处理组(B I 和 B II)要比连接处理组(A I 和 A II)中大。异质性 UV-B 辐射下,补加 UV-B 辐射处理组(C II 和 D II)中 F_o 、 ETR 和 q_p 显著降低, NPQ 明显升高。克隆分株间匍匐茎的连接使处于无 UV-B 辐射但分株和处于补加 UV-B 辐射白三叶克隆分株相连的分株片段(C I)的 ETR 和 q_p 增加, NPQ 降低,这和 D I(无 UV-B 辐射且分株和处于 UV-B 辐射克隆分株不相连)、A II(无 UV-B 辐射但分株和处于 UV-B 辐射克隆分株相连)的结果不同,可能与克隆植物匍匐

茎相连引起的生理整合有关。

表 1 同质(A,B)和异质 UV-B (C,D) 辐射下白三叶(*Trifolium repens*) 不同处理组的解剖结构参数

Table 1 Anatomic characteristic parameters in *Trifolium repens* on different treatment groups for the effects of homogeneous (A, B) and heterogeneous (C, D) UV-B radiation

处理组 Treatment groups	气孔密度 Stomatal Density/ (个/mm ²)	气孔长度 Stomatal Length/ μm	表皮细胞厚度 the thickness of epidermal cell/ μm	栅栏组织厚度 the thickness of palisade tissue/ μm
A	345 a	11.64 c	2.77 b	6.96 b
B	306 b	13.30 b	2.32 c	5.77 bc
C I	230 c	11.65 c	3.30 ab	5.40 c
C II	361 a	12.71 bc	3.15 b	5.46 c
D I	275 bc	13.40 b	3.30 ab	5.41 c
D II	346 a	15.96 a	3.65 a	10.18 a

表中同列平均值后有相同字母表示不同处理间结果无显著性差异($P<0.05$) ; 可参照图 1 的试验设计

表 2 同质(A, B)和异质(C, D) UV-B 辐射下白三叶不同处理组的叶绿素荧光参数的变化

Table 2 Effects of heterogeneous UV-B on chlorophyll II fluorescence parameters in connected and/or severed ramets under homogeneous (A and B) or heterogeneous UV-B radiation (C and D) in leaves of *Trifolium repens*

处理组 Treatment	初始荧光 F_o	最大荧光 F_m	最大量子 产量 F_v/F_m	电子传递速率 $ETR/$ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	光化学 淬灭系数 q_P	非光化学 淬灭系数 NPQ
A I	194.36±1.92a	980.38±9.60ab	0.80±0.01ab	97.00±4.50a	0.48±0.06a	0.01±0.01c
A II	192.43±2.72a	1063.91±35.43a	0.82±0.01a	90.76±12.28ab	0.50±0.06a	0.07±0.01c
B I	192.50±2.09a	1032.35±27.13ab	0.81±0.01ab	74.30±21.25bc	0.45±0.02ab	0.50±0.01ab
B II	192.44±2.68a	1074.51±38.15a	0.82±0.01a	73.20±17.20bc	0.52±0.05a	0.54±0.16ab
C I	172.87±2.40ab	912.73±15.67b	0.81±0.01ab	66.85±14.21c	0.41±0.06b	0.55±0.03ab
C II	161.77±1.92b	826.00±9.86b	0.80±0.00b	66.82±4.31c	0.35±0.01bc	0.58±0.33ab
D I	188.01±3.78a	998.38±19.65ab	0.81±0.01ab	82.91±11.02b	0.46±0.02a	0.37±0.22b
D II	154.95±0.19b	816.23±20.02b	0.80±0.00b	55.76±4.97c	0.30±0.03c	0.76±0.03a

表中同列平均值后有相同字母代表 $P<0.05$ 时不同处理间差异不显著; 可参照图 1 的试验设计

2.4 异质性 UV-B 辐射下, 克隆植物白三叶生理指标的变化

表 3 显示同质性 UV-B 辐射下(A 和 B 组), 叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素和紫外吸收物含量均无显著性差异。异质性 UV-B 辐射下, 切断处理(D)组

中, 叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量也无明显变化, 但紫外吸收物含量在 D II 中升高; 连接处理(C 组)中, UV-B 辐射端(C II)叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量要高于 C I, 且 C II 中叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量要比同质性处理(A 组)高 13.2%,

表 3 同质(A, B)和异质(C, D) UV-B 辐射下白三叶不同处理组的叶绿素及紫外吸收物含量的变化

Table 3 The effects of physiological integration and heterogeneous UV-B on contents of chlorophyll and UV-B absorbing compounds in connected and/or severed ramets under homogeneous (A and B) or heterogeneous UV-B radiation (C and D) in leaves of *Trifolium repens*

参数 Parameters	处理组 Group					
	A	B	C I	C II	D I	D II
叶绿素 a Chl a/(mg/g 干重)	0.70±0.01b	0.71±0.01b	0.66±0.01c	0.80±0.00a	0.62±0.01d	0.63±0.00d
叶绿素 b Chl b/(mg/g 干重)	0.31±0.01bc	0.31±0.01c	0.29±0.01c	0.35±0.00a	0.30±0.01bc	0.28±0.00c
总叶绿素 Total chl/(mg/g 干重)	1.05±0.02b	1.06±0.01b	0.99±0.02c	1.19±0.01a	0.96±0.02d	0.94±0.00d
紫外吸收物 UV-B-absorbing compounds	2.92±0.02b	2.90±0.12b	3.80±0.22a	3.88±0.17a	2.88±0.02b	3.91±0.32a

表中同行相同字母代表 $P<0.05$ 时不同处理间差异不显著; 可参照图 1 的试验设计

13.0% 和 9.0%,不同的是 C I,它无补加 UV-B 辐射处理,仅和辐射端相连,它的叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量要低于同质性处理(A 组)。UV-B 辐射下,C II 和 D II 紫外吸收物含量升高,但 C I,无补加 UV-B 辐射,仅和辐射端相连,紫外吸收物含量也是升高的,这可能由克隆分株间的生理整合造成。

3 讨论

3.1 异质性 UV-B 辐射下白三叶生理整合程度的变化与辐射方向无关

生理整合在克隆植物中广泛存在,例如羊草(*Leymus chinensis*)、沙生苔草(*Carex praeclara*)、白三叶和黑麦草(*Lolium perenne*)等一些种的相连克隆分株之间经常发生生理整合^[21, 26-28]。Evans 通过研究沙生苔草¹⁵N 的流动,发现在野外和温室条件下都存在着生长在高养分条件下的老分株向生长在低养分条件下的幼小分株输出养分的现象^[28]。本研究中,通过图 2 可以看出标记的 N 通过相连的白三叶匍匐茎从标记端向相反的非标记端移动,表明白三叶养分生理整合无论在同质还是异质 UV-B 辐射下均存在。

养分整合是克隆植物生理整合过程中非常重要的一部分,其受到遗传、形态结构、生理功能和环境因子等的影响^[29-30]。异质性环境下,处于资源丰富斑块中的克隆分株常作为“供体”提供资源,而处于资源贫乏斑块中的分株则作为“受体”接受资源。本研究中,异质性 UV-B 辐射下,标记端的 N 转移到非标记端的量减少,保留在标记端的 N 含量(C II 4.8% 和 CIV 3.83%) 高于同质性 UV-B 辐射下的 N 含量(A II 2.33%),且紫外辐射和同位素标记处于不同端的 N 转移含量要低于紫外辐射和同位素处于同一端的处理(C II 3.76% vs CIV 6.57%),可能与 UV-B 辐射信号传递的快慢相关,说明异质性 UV-B 辐射下养分生理整合强度降低,UV-B 辐射对植物的生长和生理过程均有有害影响,植物为了更好地应对增强的 UV-B 辐射,可能会使紫外辐射端拥有更多的资源,而向相邻端转移的资源就会减少,靠优先保存自身来提高克隆植物整体适合度,从而增强整个克隆植株对 UV-B 辐射的防御能力。

3.2 异质性 UV-B 辐射下白三叶形态结构特化

叶片结构特征最能体现外界环境因子的影响或

植物对环境的适应性,被认为是植物进化过程中对环境变化比较敏感而且可塑性较大的器官。UV-B 辐射下,叶片气孔密度增加,而且气孔闭合数增加,气孔阻力增大,通过增强叶片对 CO₂ 的摄入来提高叶片与外界环境之间的气体交换能力,进而使光合作用速率升高,而且发达的栅栏组织是植物对强光生境的适应性表现形式^[31]。本研究中,相比同质性 UV-B 辐射,异质性 UV-B 辐射下,切断处理组气孔长度增加(D II 15.96 vs B13.30),栅栏组织增厚(D II 10.18 vs B5.77),和前人的研究结果一致,但连接处理组结果却不同,可能和克隆植物生理整合相关,白三叶克隆分株间匍匐茎的连接使叶片形态结构发生特化,利于劳动分工,使克隆植物可以更好地吸取资源,是一种觅食行为,也和风险分摊相关,通过这些特性,克隆植物在逆境下可以更好的生存和生长。

3.3 异质性 UV-B 辐射下白三叶叶绿素荧光参数的变化

叶绿素荧光是植物光化学反应的指示物,利用体内叶绿素作为天然探针,可以快速、灵敏且无损伤地探测植物光合生理状况及各种外界因子对植物光合作用的影响^[32]。高等植物需要消耗掉超出光饱和能力的光能来保护光合器官^[33]。本研究中,叶绿素荧光参数除了 NPQ,其它参数在同质性 UV-B 辐射下均无显著变化,且 NPQ 在切断处理中升高,和前人的研究结果一致^[32]。

一些研究表明,胁迫环境造成 F_m 、 F_v/F_m 、ETR、 q_p 的降低和 F_o 与 NPQ 的升高^[34-35]。Larsson 等在 UV-B 辐射下发现了叶绿素荧光参数具同样的变化^[36]。本研究中,异质性 UV-B 辐射下,补加的 UV-B 辐射处理(C II 和 D II)造成 F_o 、ETR 和 q_p 的显著降低和 NPQ 的明显升高。 F_o 在逆境下升高,可能是因为从天线色素转移到反应中心的能量减少^[37],然而有些情况下功能反应中心会失活,造成 F_o 的升高^[38]。但是克隆分株间匍匐茎的连接使 C I (无补加 UV-B 辐射但和处于 UV-B 辐射克隆分株端相连)的 ETR 和 q_p 增加, NPQ 降低,显示出生理整合减弱了 UV-B 辐射的影响,增加了白三叶的光合能力,使整个克隆分株受益。

3.4 异质性 UV-B 辐射下白三叶存在着防御性生理整合

同质性 UV-B 辐射下(A 和 B 组),叶绿素 a、叶

叶绿素 b、总叶绿素和紫外吸收物含量均无显著性差异,表明切断处理对叶绿素和紫外吸收物含量无影响,异质性 UV-B 辐射下两者的变化是由生理整合造成。叶绿素在 UV-B 辐射下会被分解,这是由编码叶绿素的基因调控^[39]。紫外吸收物(主要是黄酮)已经成为植物对 UV-B 辐射响应的重要物质,它能减弱 UV-B 辐射对植物表皮的伤害,当补加 $13.3 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ UV-B 辐射时,9 种白三叶黄酮含量升高 100%^[40]。

先前有研究表明,异质性环境下,子株的生长是以减缓母株生长为代价,只是最后使克隆分株整体适合度提高^[12]。本研究,CI 无补加 UV-B 辐射处理,仅和辐射端相连,它的叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量要低于同质性处理(A 组),叶绿素含量和光合能力紧密相连,其含量的降低会减弱植物的光合能力,但这并不意味着克隆植物生理整合不能从其他方面获益。紫外吸收物在 CI 中的升高,紫外吸收物在植物防御中发挥着重要作用^[25],其升高合理的解释可能是 UV-B 辐射端克隆分株受到补加 UV-B 辐射产生信号分子,信号分子通过克隆分株间相连的匍匐茎传递给 UV-B 非辐射端,诱导其升高紫外吸收物含量,抵抗 UV-B 对植株的伤害,克隆植物生理整合使植物资源利用最大化,它用防御整合代替资源整合,从而使植物整体适合度提高。

4 结论

总之,异质性 UV-B 辐射下,克隆植物白三叶生理整合存在,但整合强度降低,且 UV-B 辐射与 N 同位素标记是否处于同一端对结果无影响,验证了前面提出的假设 1。在生理整合过程中,白三叶克隆分株发生了形态结构特化,这和假设 2 一致,克隆植株内部出现了劳动分工,更加利于植物获取逆境中的资源,这可能与风险分摊相关。由于 UV-B 辐射对植物的生长过程有一定的伤害效应,植物产生紫外吸收物抵抗 UV-B 辐射的伤害,紫外吸收物在 UV-B 辐射胁迫端和 UV-B 辐射非胁迫端克隆分株间分享,使人们对克隆植物生理整合有了更进一步的认识,克隆植物生理整合不仅包括资源生理整合,也包括防御性生理整合(和假设 3 一致),形态结构功能也发生了特化。处于 UV-B 辐射胁迫端的克隆分株在 UV-B 辐射这一逆境胁迫下,倾向于“自保”,提高自

身光合同化能力,产生更多的光合同化产物,使整个克隆植株获益。

References:

- [1] Alpert P, Mooney H A. Resource sharing among ramets in the clonal herb, *Fragaria chiloensis*. *Oecologia*, 1986, 70 (2): 227-233.
- [2] Mashall C. Source-sink relations of interconnected ramets // van Groenendaal J, de Kroon H. *Clonal Growth in Plants: Regulation and Function*. The Hague: SPB Academic Publishing, 1990: 23-42.
- [3] Dong M. Clonal growth in plants in relation to resource heterogeneity: foraging behavior. *Acta Botanica Sinica*, 1996, 38 (10): 828-835.
- [4] Wijesinghe D K, Hutchings M J. Patchy habitats, division of labour and growth dividends in clonal plants. *Trends in Ecology and Evolution*, 1997, 12(10): 390-394.
- [5] Saitoh T, Seiwai K, Nishiwaki A. Effects of resource heterogeneity on nitrogen translocation within clonal fragments of *Sasa palmata*: an isotopic (^{15}N) assessment. *Annals of Botany*, 2006, 98(3): 657-663.
- [6] Brewer J S, Bertness M D. Disturbance and intraspecific variation in the clonal morphology of salt marsh perennials. *Oikos*, 1996, 77(1): 107-116.
- [7] Yu F H, Dong M, Zhang C Y. Intracolonial resource sharing and functional specialization of ramets in response to resource heterogeneity in three stoloniferous herbs. *Acta Botanica Sinica*, 2002, 44(4): 468-473.
- [8] Chen J S, Lei N F, Dong M. Clonal integration improves the tolerance of *Carex praeclara* to sand burial by compensatory response. *Acta Oecologica*, 2010, 36(1): 23-28.
- [9] Caldwell M M, Pearce R P. *Exploitation of Environmental Heterogeneity by Plants: Ecophysiological Processes Above-and Belowground*. San Diego: Academic Press, 1994: 106-123.
- [10] Roiloa S R, Retuerto R. Responses of the clonal *Fragaria vesca* to microtopographic heterogeneity under different water and light conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 2007, 61: 1-9.
- [11] Zhang L L, He W M. Consequences of ramets helping ramets: No damage and increased nutrient use efficiency in nurse ramets of *Glechoma longituba*. *Flora*, 2009, 204(3): 182-188.
- [12] Salzman A G, Parker M A. Neighbors ameliorate local salinity stress for a rhizomatous plant in a heterogeneous environment. *Oecologia*, 1985, 65(2): 273-277.
- [13] D'Hertefeldt T, van der Putten W H. Physiological integration of the clonal plant *Carex arenaria* and its response to soil-Borne pathogens. *Oikos*, 1998, 81(2): 229-237.
- [14] Jiang X Y, Zhao K F. Mechanism of heavy metal injury and resistance of plants. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2001, 7(1): 92-99.
- [15] Roiloa S R, Retuerto R. Physiological integration ameliorates effects of serpentine soils in the clonal herb *Fragaria vesca*. *Physiologia Plantarum*, 2006, 128(4): 662-676.
- [16] Li Q, Liu X, Yue M, Tang W T, Meng Q C. Response of

- physiological integration in *Trifolium repens* to heterogeneity of UV-B radiation. *Flora*, 2011, 206(8): 712-719.
- [17] Li Q, Liu X, Yue M, Zhang X F, Zhang R C. Effects of physiological integration on photosynthetic efficiency of *Trifolium repens* in response to heterogeneity of UV-B radiation. *Photosynthetica*, 2011, 49(4): 539-545.
- [18] Bassman J H, Edwards G E, Robberecht R. Long-term exposure to enhanced UV-B radiation is not detrimental to growth and photosynthesis in *Douglas-fir*. *New Phytologist*, 2002, 154(1): 107-120.
- [19] Caldwell M M, Bornman J F, Ballaré C L, Flint S D, Kulandaivelu G. Terrestrial ecosystems, increased solar ultraviolet radiation, and interactions with other climate change factors. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 2007, 6(3): 252-266.
- [20] Madronich S, McKenzie R L, Björn L O, Caldwell M M. Changes in biologically active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. *Journal of Photochemistry Photobiology B: Biology*, 1998, 46(1/3): 5-19.
- [21] Weijsschedé J, Martinková J, de Kroon H, Huber H. Shade avoidance in *Trifolium repens*: costs and benefits of plasticity in petiole length and leaf size. *New Phytologist*, 2006, 172(4): 655-666.
- [22] Högborg P. Tansley Review No. 95: ^{15}N natural abundance in soil-plant systems. *New Phytologist*, 1997, 137(2): 179-203.
- [23] Hirose T, Izuta T, Miyake H, Totsuka T. A stomatal impression method using a fast-sticking adhesive. *Japanese Journal of Crop Science*, 1992, 61(1): 159-160.
- [24] Li H S. The Theory and Technology of Plant Physiology and Biochemistry. Beijing: Higher Education Press, 2000: 130-132.
- [25] Day T A, Martin G, Vogelmann T C. Penetration of UV-B radiation in foliage: evidence that the epidermis behaves as a non-uniform filter. *Plant Cell and Environment*, 1993, 16(6): 735-741.
- [26] Colvill K E, Marshall C. Tiller dynamics and assimilate partitioning in *Lolium perenne* with particular reference to flowering. *Annals of Applied Biology*, 1984, 104(3): 543-557.
- [27] Wang Y S, Hong R M, Huang D M, Teng X H, Li Y S, Masae S, Miki N. The translocation of photosynthate between clonal ramets of *Leymus chinensis* population. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(5): 900-907.
- [28] Cullen B R, Chapman D F, Quigley P E. Carbon resource sharing and rhizome expansion of *Phalaris aquatica* plants in grazed pastures. *Functional Plant Biology*, 2005, 32(1): 79-85.
- [29] Pan J J, Clay K. *Epichloë glyceriae* infection affects carbon translocation in the clonal grass *Glyceria striata*. *New Phytologist*, 1994, 164(3): 467-475.
- [30] Price E A C, Hutchings M L. The causes and developmental effects of integration and independence between different parts of *Glechoma hederacea* clones. *Oikos*, 1992, 63(3): 376-386.
- [31] He T, Wu X M, Jia J F. Research advances in morphology and anatomy of alpine plants growing in the Qinghai-Tibet Plateau and their adaptations to environments. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(6): 2574-2583.
- [32] Wang N, Yu F H, Li P X, He W M, Liu F H, Liu J M, Dong M. Clonal integration affects growth, photosynthetic efficiency and biomass allocation, but not the competitive ability, of the alien invasive *Alternanthera philoxeroides* under severe stress. *Annals of Botany*, 2008, 101(5): 671-678.
- [33] Gilmore A M. Mechanistic aspects of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in higher plant chloroplasts and leaves. *Physiologia Plantarum*, 1997, 99(1): 197-209.
- [34] Groom Q J, Baker N R. Analysis of light-induced depressions of photosynthesis in leaves of a wheat crop during the winter. *Plant Physiology*, 1992, 100(3): 1217-1223.
- [35] Epron D, Dreyer E, Bréda N. Photosynthesis of oak trees [*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.] during drought under field conditions: diurnal course of net CO_2 assimilation and photochemical efficiency of photosystem II. *Plant, Cell and Environment*, 1992, 15(7): 809-820.
- [36] Larsson E H, Bornman J F, Asp H. Influence of UV-B radiation and Cd^{2+} on chlorophyll fluorescence, growth and nutrient content in *Brassica napus*. *Journal of Experimental Botany*, 1998, 49(323): 1031-1039.
- [37] Briantais J M, Vernotte C, Krause G H, Weis E. Chlorophyll a fluorescence of higher plants: chloroplasts and leaves // Govindjee A J, Fork D C. Light Emission by Plants and Bacteria. New York: Academic Press, 1986: 573-577.
- [38] Kalbin G, Ohlsson A B, Berglund T, Rydström J, Strid A. Ultraviolet-B-radiation-induced changes in nicotinamide and glutathione metabolism and gene expression in plants. *European Journal of Biochemistry*, 1997, 249(2): 465-472.
- [39] Strid A, Chow W S, Anderson J M. UV-B damage and protection at the molecular level in plants. *Photosynthesis Research*, 1994, 39(3): 475-489.
- [40] Hofmann R W, Swinny E E, Bloor S J, Markham K R, Ryan K G, Campbell B D, Jordan B R, Fountain D W. Responses of nine *Trifolium repens* L. populations to Ultraviolet-B radiation: differential flavonol glycoside accumulation and biomass production. *Annals of Botany*, 2000, 86(3): 527-537.

参考文献:

- [3] 董鸣. 资源异质性环境中的植物克隆生长: 觅食行为. *植物学报*, 1996, 38(10): 828-835.
- [14] 江行玉, 赵可夫. 植物重金属伤害及其抗性机理. *应用与环境生物学报*, 2001, 7(1): 92-99.
- [24] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000: 130-132.
- [27] 王昱生, 洪锐民, 黄大明, 滕小华, 李月树, 盐见正卫, 中村未树. 羊草种群克隆分株之间光合产物的转移. *生态学报*, 2004, 24(5): 900-907.
- [31] 何涛, 吴学明, 贾敬芬. 青藏高原高山植物的形态和解剖结构及其对环境的适应性研究进展. *生态学报*, 2007, 27(6): 2574-2583.