

DOI: 10.5846/stxb201303060358

杜晓濛, 李菁, 田向荣, 李朝阳, 李鹤鸣. 尖叶拟船叶藓光系统 II 光合荧光特性、活性氧代谢与耐脱水生理生态适应的关系. 生态学报, 2014, 34(23): 6807-6816.

Du X M, Li J, Tian X R, Li Z Y, Li H M. Influence of dehydration and rehydration on photosynthetic chlorophyll characteristics and reactive oxygen species metabolism in *Dolichomitriopsis diversiformis*. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(23): 6807-6816.

尖叶拟船叶藓光系统 II 光合荧光特性、活性氧代谢与耐脱水生理生态适应的关系

杜晓濛¹, 李菁^{1, 2}, 田向荣^{1, 2, *}, 李朝阳¹, 李鹤鸣^{1, 2}

(1. 湖南吉首大学生物资源与环境科学学院, 吉首 416000; 2. 植物资源保护与利用湖南省高校重点实验室, 吉首 416000)

摘要:以广布湿生藓类——湿地甸灯藓 (*Plagiomnium acutum*) 为比较材料, 研究东亚特有濒危植物尖叶拟船叶藓 (*Dolichomitriopsis diversiformis*) 在不同快速脱水和复水胁迫下 PS II 的叶绿素光合荧光变化和活性氧代谢及抗氧化系统变化, 探讨两种藓类生理生态适应性差异的成因, 以初步确定尖叶拟船叶藓受水分条件限制分布狭窄趋于濒危的原因。结果显示: (1) 尖叶拟船叶藓的光合电子传递在脱水后可被极微弱光完全抑制, 其抑制光强的恢复明显慢于湿地甸灯藓; 其 PS II 最大光化学效率 (F_v/F_m) 和实际光化学量子效率 (Y_{II}) 先降而后升, 恢复较慢; 光化学淬灭 (qP) 复水后恢复较快, 非光化学淬灭 (NPQ) 的绝对值和变化速率则始终低于湿地甸灯藓。(2) 尖叶拟船叶藓活性氧水平明显高于湿地甸灯藓; 其 SOD、CAT、APX 等抗氧化系统酶活性整体变化幅度较大, 抗氧化保护物质 (AsA) 含量则明显低于湿地甸灯藓。以上结果表明尖叶拟船叶藓受到环境水分因子限制的原因主要有: (1) PS II 的反应中心色素 (P680) 对脱水伤害较为敏感; (2) 复水修复过程中抗氧化保护系统的保护能力偏低。

关键词:尖叶拟船叶藓; 湿地甸灯藓; 生态适应性; 脱水与复水; PS II 光合荧光; 氧代谢

Influence of dehydration and rehydration on photosynthetic chlorophyll characteristics and reactive oxygen species metabolism in *Dolichomitriopsis diversiformis*

DU Xiaomeng¹, LI Jing^{1, 2}, TIAN Xiangrong^{1, 2, *}, LI Zhaoyang¹, LI Huming^{1, 2}

¹ School of Biology and Environmental Science, Jishou University, Jishou 416000, China

² Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Utilization, College of Hunan Province, Jishou 416000, China

Abstract: *Dolichomitriopsis diversiformis*, an endangered moss species which is unique to East Asia, is now distributed in a very narrow area. From our early field investigation of its habitat, we found that the species is restricted by moisture content of atmosphere and growth matrix. In order to disclose the endangered mechanism of *D. diversiformis* under water stress, and to elucidate eco-physiological differences of bryophytes in similar humidity habitat, *Plagiomnium acutum*, a widespread species was selected to compare with *D. diversiformis*. Therefore, their photosynthetic chlorophyll characteristics of photosystem II (PS II), such as electron transport rate (ETR) - photosynthetic available radiation (PAR) curves, maximal photochemical efficiency (F_v/F_m), photosystem quantum yielding (Y_{II}), photochemical quenching (qP) and non-photochemical quenching (NPQ) were detected by PAM 2500 and IMAGING PAM. Furthermore, metabolism of reactive

基金项目:国家自然科学基金项目 (30470181, 31360062); 湖南省教育厅优秀青年项目 (09B082); 湖南省重点学科建设项目 (JSU0713Z11); 湖南省高校科技创新团队支持计划 (201208Z02)

收稿日期:2013-03-06; **网络出版日期:**2014-03-18

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: dna_rna_pro@126.com

oxygen species (superoxide anion and hydrogen peroxide), activities of antioxidative enzymes (superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX)) and content of ascorbic acid (ASA) in the two moss species during desiccation and rehydration were determined in our studies. Results of ETR-PAR curve indicated that desiccation reduced the inhibitory light density of both species; but when water content recovered, the inhibitory light density restored to normal status. Compared with *P. acutum*, ETR of *D. diversiformis* was blocked completely by very weak light density after 60 min dehydration and recovered much more slowly in rehydration. And the results of other PS II chlorophyll fluorescence characters also gave similar evidences. F_v/F_m and Y_{II} of both bryophytes were decreased under desiccation and then increased in rehydration, but the value of *D. diversiformis* declined more quickly during desiccation and recovered more slowly in rehydration. That is to say, photosynthetic electron transport of PS II in *D. diversiformis* can be not only reduced by water loss but also destroyed completely by deep desiccation. Meanwhile, variation of qP and NPQ of both species manifested an interesting occurrence. qP of *D. diversiformis* declined more quickly than *P. acutum* in desiccation and returned to normal condition much more quickly than that of *P. acutum*. In other words, photosynthetic reaction which is represented by photochemical quenching is protected primarily in *D. diversiformis*. But photochemical quenching restoration would bring out more production of reactive oxygen species. Otherwise, though NPQ of both species increased in desiccation and decrease in rehydration, yet the absolute value of *D. diversiformis* maintained a relative low level. These results suggested that the photo-protective mechanism supported by xanthophyll cycle in *D. diversiformis* should be weaker than in *P. acutum*. All these results indicate that PS II of *D. diversiformis*, especially reaction central pigment (P680) is more sensitive to dehydration than *P. acutum*. Results of reactive oxygen species metabolism showed that absolute value of superoxide anion production and hydrogen peroxide content in *D. diversiformis* were significantly higher than in *P. acutum*. Furthermore, though anti-oxidative enzymes, such as SOD, CAT, APX also increased similar of reactive oxygen species under desiccation, yet their activities in *D. diversiformis* decreased more quickly in rehydration. In conclusion, the sensitivity of photosystem II and the low efficiency of antioxidative system in rehydration are probably two major eco-physiological restricting factors of *D. diversiformis* narrow distribution.

Key Words: *Dolichomitriopsis diversiformis*; *Plagiomnium acutum*; ecological adaptation; dehydration and rehydration; PS II photosynthetic chlorophyll; oxygen metabolism

自 20 世纪 70 年代以来,以山墙藓 (*Tortula ruralis*) 等为材料的研究证实藓类植物具有极强的脱水耐性^[1-3],其典型的变水 (poikilohydric) 特性使它们能够在特殊生境 (如极度干旱地区) 和特殊基质 (如维管植物叶面) 生长,其特殊的生理机制使其具有极强的适应干旱环境的能力^[4]。而藓类植物体内的水分关系及耐受能力决定了其种群的分布范围和生存能力,即湿生藓类耐旱性较弱,干旱环境下生长的藓类具有较强的耐旱性。此种生理生态适应性一方面与其栖息地水势变化息息相关,另一方面则与生理代谢途径的不同密不可分^[5]。

然而即使长期生活在同样干旱或湿润环境下的不同藓属,其脱水耐受能力和生理生化响应也存在一定差别。国内对沙漠结皮藓类,如刺叶赤藓 (*Syntrichia caninervis* Mitt) 和土生对齿藓 (*Didymodon*

vinealis) 的系列研究业已证明同为干旱区藓类其耐受性存在明显差距^[6-11],其中对土生对齿藓 (*Didymodon vinealis*) 与结皮共生的真藓 (*Bryum argenteum*) 进行光合特性分析发现两种藓类光合特性在脱水过程中差异明显^[11]。而 Minibayeva 和 Beckett 的研究也指出湿润环境下生长的不同藓类在产生氧迸发 (oxidative burst) 和抗氧化能力方面仍存在明显差异^[12]。

尖叶拟船叶藓 (*Dolichomitriopsis diversiformis*) 系船叶藓科 (Lembophyllaceae) 拟船叶藓属植物,为东亚特有种,数量少,且分布狭窄。以往研究发现水分条件是限制其分布的主要因子之一^[13]。由于环境日益干旱,在自然和人为因素的双重影响下,其天然种群不断衰减,分布范围越来越窄,濒临灭绝^[14]。为保护这一濒危物种,本研究试图以广布湿生藓

类—湿地匍灯藓 (*Plagiomnium acutum*) 为比较材料,从生理生态学角度探讨变水下尖叶拟船叶藓叶绿素光合荧光作用、氧代谢及其保护系统酶活性的变化与生态适应的关系。

1 材料和方法

1.1 实验材料

供实验的尖叶拟船叶藓采自贵州省梵净山海拔 1680 米的常叶阔叶林内^[15],湿地匍灯藓采自湖南省吉首市西郊德夯风景区小溪畔,材料采集后在室温下以自然光源作保湿培养。

1.2 实验方法

选择硅胶快速脱水法作为本实验脱水方式和方法^[16]。以未经处理为对比,脱水时间梯度分别为 30 min (D30)、60 min (D60)、120 min (D120)、240 min (D240);脱水不同时间后,将干燥的藓类放置用湿滤纸覆盖的培养皿中进行复水处理,复水时间梯度为 30 min (R30)、60 min (R60)、120 min (R120)、240 min (R240)。

1.2.1 含水量的测定

以干重为基础计算含水量,单位为 g H₂O/g 干重。每个处理时间点进行 3 次重复^[17]。

1.2.2 PS II 叶绿素荧光参数测定

用 PAM-2500 便携式调制叶绿素荧光仪和 IMAGING-PAM 叶绿素荧光成像仪 (WALZ, 德国) 分别绘制不同脱水与复水处理下的荧光光响应曲线 (ETR-PAR) 和荧光成像图,并测定最大光化学效率 (F_v/F_m)、光化学量子效率 $Y(II)$ 、光化学猝灭系数 (qP)、非光化学猝灭系数 (NPQ) 等叶绿素荧光

参数^[18]。

1.2.3 活性氧的测定

超氧阴离子自由基 (O_2^-) 产生速率采用羟胺氧化法测定,以 nmol min⁻¹ g⁻¹ 干重来表示^[19]。过氧化氢 (H₂O₂) 含量采用 TiCl₄ 络合离子分光光度法测定,含量以 μmol/g 干重来表示^[20]。

1.2.4 抗氧化系统酶和非酶测定

超氧化物歧化酶 (SOD) 活性以抑制 0.1 个吸收值为 1U, 过氧化氢酶 (CAT) 活性以每 min 光吸收值减少 0.1 为 1U^[21]。抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 以每 min 光吸收值减少 0.1 为 1U^[22]。抗坏血酸 (AsA) 含量以 mg/g 干重来表示^[23]。蛋白质含量以牛血清蛋白为标准^[24]。

1.2.5 数据统计分析

采用 Excel2003 和 SPSS 13.0 进行均值、标准差和差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 脱水与复水过程中尖叶拟船叶藓和湿地匍灯藓含水量的变化

脱水与复水过程中两种藓类植物含水量变化剧烈 (表 1)。正常情况下,两种藓类的含水量均保持高水平,而 D240 时其含水量均迅速下降至最低值,均降至低于 0.05 g H₂O/g 干重以下,但 D60 以后含水量再无显著差别 ($P>0.05$)。脱水后迅速复水过程中,两种藓类植物的含水量均能迅速恢复, R120 时基本接近对照水平,无论绝对值和变化幅度变化并无明显差别 ($P>0.05$)。

表 1 脱水与复水过程中尖叶拟船叶藓与湿地匍灯藓的含水量 (g H₂O/g 干重) 变化

Table 1 Alternation of moisture content in *D. diversiformis* and *P. acutum* during dehydration and rehydration

藓类植物 Bryophyta	脱水/min Dehydration	复水 Rehydration/min				
		0	30	60	120	240
湿地匍灯藓 <i>P. acutum</i>	0	4.818±0.227aC	4.853±0.203aC	4.858±0.186aD	4.862±0.175aB	4.857±0.224aB
	30	0.599±0.023aB	4.761±0.067bC	4.402±0.309bC	4.269±0.369bA	4.690±0.334bA
	60	0.075±0.003aA	4.244±0.324bBC	4.663±0.105bD	4.283±0.238bB	4.099±0.366bA
	120	0.063±0.007aA	3.298±0.112bA	3.823±0.083bC	4.465±0.202bAB	3.942±0.088bC
	240	0.054±0.007aA	3.457±0.363bA	3.751±0.182bB	4.273±0.584cB	3.825±0.339bC
尖叶拟船叶藓 <i>D. diversiformis</i>	0	10.092±0.421aC	10.123±0.321bD	10.137±0.226bC	10.087±0.135cB	10.111±0.146cB
	30	0.313±0.124aB	7.424±0.014bB	8.670±0.197cA	9.464±0.128dAB	10.085±0.340dB
	60	0.112±0.029aA	9.055±0.348bC	9.060±0.290bA	9.227±0.309bC	9.430±0.337cA
	120	0.070±0.005aA	8.754±0.317bC	9.179±0.186bAB	9.239±0.310bC	9.768±0.061cAB
	240	0.029±0.007aA	6.295±0.411bA	8.662±0.522cA	9.407±0.202dAB	9.839±0.310dAB

不同大写字母表示各脱水下组间的差异显著性,不同小写字母表示各复水下组间差异显著性 ($P<0.05$)

同时,两种藓类植物含水量的差异明显(表1),尖叶拟船叶藓和湿地匍灯藓两种藓类的含水量分别为 $10.092 \text{ g H}_2\text{O/g 干重}$ 和 $4.818 \text{ g H}_2\text{O/g 干重}$ 。虽然同为湿生藓类,但前者的含水量为后者的 2.09 倍。由表 1 还可知两种藓类植物的控水能力差异也较明显。尖叶拟船叶藓的失水和复水幅度都比湿地匍灯藓大。脱水过程中,D120 时尖叶拟船叶藓的含水量为对照的 0.70%,而湿地匍灯藓则为其对照的 1.3%,是湿地匍灯藓的 1.7 倍。复水过程中,无论脱水程度如何,尖叶拟船叶藓在 R60 时,含水量可恢复到其对照含水量的 90% 上下,而湿地匍灯藓均须在 R120 后才达到其对照的 90% 上下,后者明显慢于前者。

2.2 PS II 荧光光响应曲线(ETR-PAR)

脱水胁迫加剧过程中,尖叶拟船叶藓的抑制光

强迅速降低,从对照的 $1375 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$,下降到 D30 时 $105 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$,D60 时极微弱光也能造成抑制;相反,湿地匍灯藓在 D30 时的抑制光强仍达 $249 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (图 1)。两种藓类在正常条件下所能达到的光合电子传递速率(ETR)都接近 $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$,D30 时尖叶拟船叶藓 ETR 仅为 $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$,D60 时,ETR 已无法检测;而湿地匍灯藓 D60 时仍可以达到 $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (图 1)。复水后,两种藓类的抑制光强和 ETR 均逐渐恢复,抑制光强恢复迅速,R120 时均可都恢复到正常水平。说明含水量较低时 PS II 的光电转换能力会下降,而复水后可逐渐恢复。

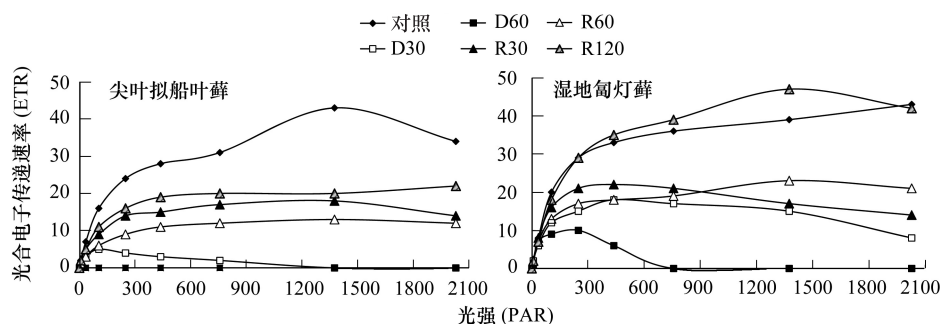


图 1 脱水与复水过程中尖叶拟船叶藓与湿地匍灯藓的叶绿素荧光光响应曲线

Fig. 1 Electron transport rate (ETR)-photosynthetic available radiation (PAR) curves of *D. diversiformis* and *P. acutum* during dehydration and rehydration

control 为无脱水对照,D30 为脱水 30min,D60 为脱水 60min,R30 为复水 30min,R60 为复水 60min,R120 为复水 120min

2.3 脱水与复水过程中尖叶拟船叶藓和湿地匍灯藓 PS II 叶绿素荧光参数变化

2.3.1 F_v/F_m 荧光成像整体变化

尖叶拟船叶藓(图 2 A—F)和湿地匍灯藓(图 2 a—f)在脱水过程中荧光逐渐暗淡,株体收缩、卷曲,从蓝变绿至黄,表示 F_v/F_m 逐渐减小;复水过程中,叶片张开,荧光逐渐恢复亮度,蓝色面积逐渐增大,表示 F_v/F_m 逐渐增大。脱水过程中,尖叶拟船叶藓 F_v/F_m 低于湿地匍灯藓,R30 时湿地匍灯藓已大面积恢复蓝色,而尖叶拟船叶藓仅有局部恢复绿色,至 R120 时,湿地匍灯藓已完全恢复蓝色,而尖叶拟船叶藓仅有部分区域恢复蓝色,表示从整体上看尖叶拟船叶藓在复水过程中 F_v/F_m 的恢复进程明显慢于湿地匍灯藓。

2.3.2 最大光化学效率(F_v/F_m)和光化学量子效率 $Y(II)$

脱水与复水过程中两种藓类的 F_v/F_m 值与含水量变化的趋势一致,呈先降后升的趋势(图 3)。尖叶拟船叶藓 D60 达到最低值 0.202,较正常水平下降了 68%;而复水 R120 时 F_v/F_m 值仅为 0.51,仍未恢复到正常水平。湿地匍灯藓 F_v/F_m 同比明显高于尖叶拟船叶藓。 $Y(II)$ 值的变化与 F_v/F_m 值的走势相似(图 3),其中尖叶拟船叶藓 D60 时值达到最低,比对照下降了 92.4%,与对照组相比差异显著 ($P < 0.05$),复水至 R120 仍未恢复到原有水平。说明尖叶拟船叶藓由于 PS II 受损,光合效能恢复较慢。

2.3.3 光化学淬灭(qP)和非光化学淬灭(NPQ)

随着脱水时间的延长,尖叶拟船叶藓的 qP 值迅速下降,由对照的 0.658 降到 D60 时的 0.282(图 3)。其中 D30 与 D60 并无显著差异 ($P > 0.05$),可认为 D30 时即已基本降至稳定的低值。复水后 qP 迅速

恢复,R30 时已恢复到原有水平。湿地匍灯藓变化幅度明显小于尖叶拟船叶藓。NPQ 值的变化与 qP 值变化相反(图 3),其中尖叶拟船叶藓 D60 时 NPQ 最大值才 0.486,为对照的 2 倍多。复水过程中, NPQ 迅速下降,D30 后与对照的水平已基本无差别

($P > 0.05$)。而湿地匍灯藓 D60 最大值达到为 0.835,整个脱水和复水过程 NPQ 都要高于尖叶拟船叶藓。说明脱水胁迫下湿地匍灯藓可以更多地依靠热耗散能力来保护其光合机构,而尖叶拟船叶藓的此种光合机构保护能力则相对较弱。

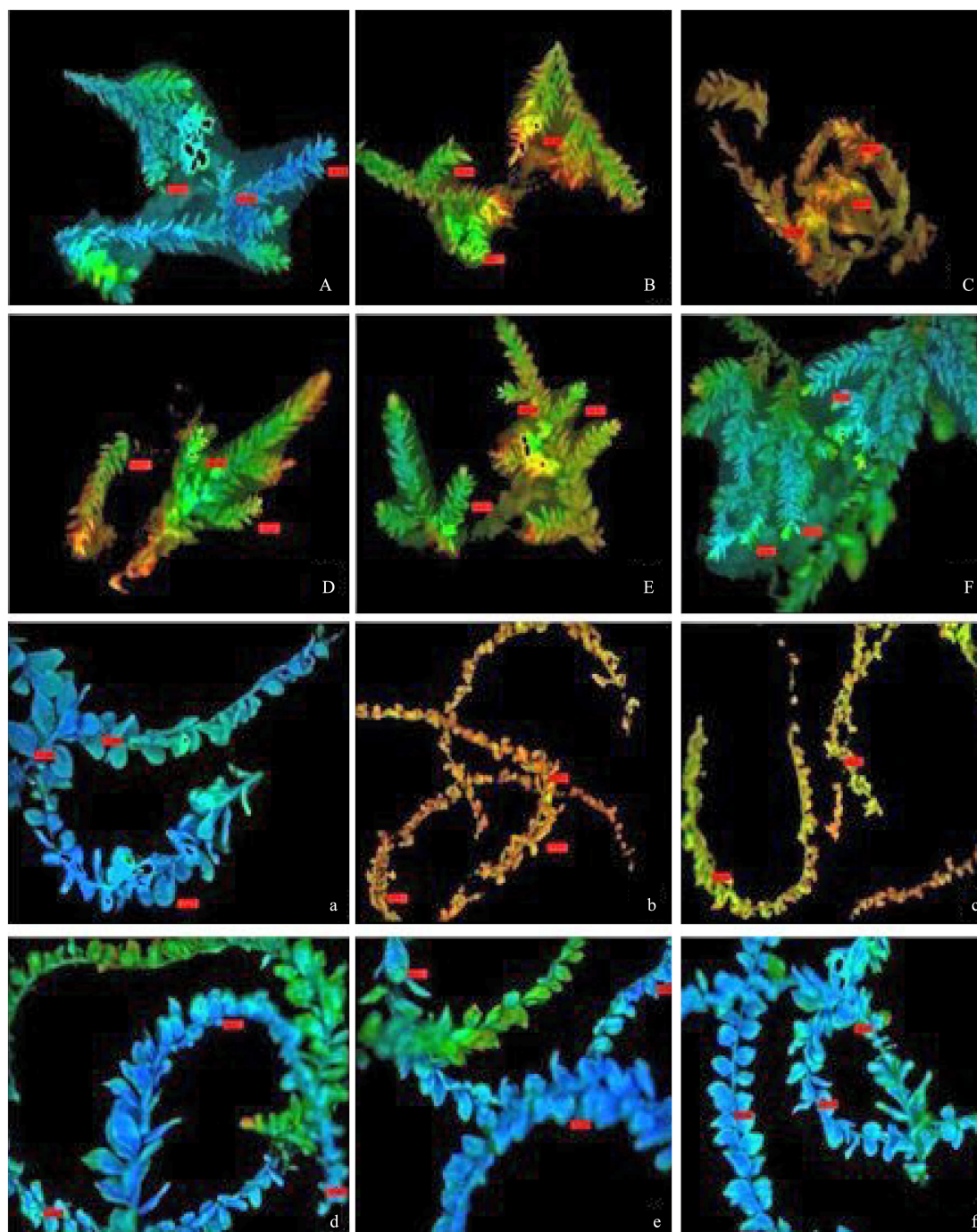


图 2 脱水与复水过程中尖叶拟船叶藓(A—F)与湿地匍灯藓(a—f) F_v/F_m 荧光成像整体变化

Fig.2 Alternation of whole phytolon F_v/F_m in *D. diversiformis* (A—F) and *P. acutum* (a—f) during dehydration and rehydration

A—F: 尖叶拟船叶藓, a—f: 湿地匍灯藓; (A) control: 无脱水对照; (B) D30: 脱水 30min; (C) D60: 脱水 60min; (D) R30: 复水 30min; (E) R60: 复水 60min; (F) R120: 复水 120min; (a) control: 无脱水对照; (b) D30: 脱水 30min; (c) D60: 脱水 60min; (d) R30: 复水 30min; (e) R60: 复水 60min; (f) R120: 复水 120min

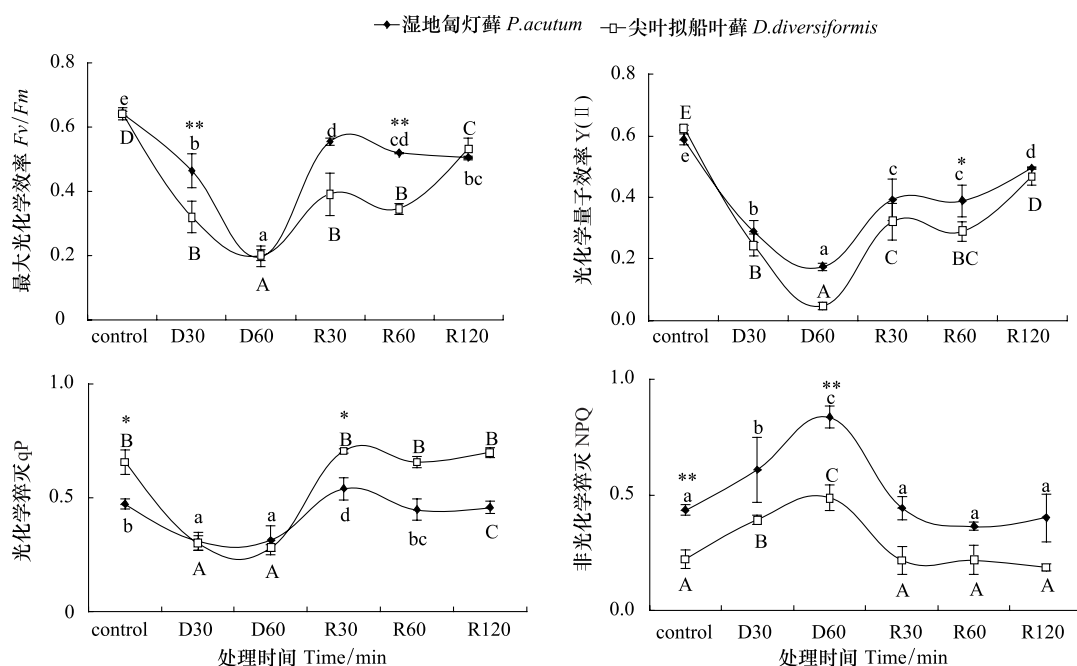


图3 快速脱水与复水过程中尖叶拟船叶藓与湿地甸灯藓最大光化学效率、光化学量子效率、光化学淬灭和非光化学淬灭的变化

Fig.3 Alternation of F_v/F_m (maximal photochemical efficiency), $Y(II)$ (photosystem II quantum yielding), qP (photochemical quenching) and NPQ (non-photochemical quenching) in *D. diversiformis* and *P. acutum* during dehydration and rehydration

control: 无脱水对照, D30: 脱水 30min, D60: 脱水 60min, R30: 复水 30min, R60: 复水 60min, R120: 复水 120min; 不同大、小写字母表示各脱水和复水时间在 0.05 水平存在显著性差异 ($P < 0.05$), * 表示相同脱水复水处理下不同藓种间差异的显著性 (* 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$)

2.4 脱水与复水过程中尖叶拟船叶藓和湿地甸灯藓活性氧代谢的变化

2.4.1 活性氧自由基

脱水与复水过程中,两种藓类的活性氧都随着含水量下降而产生和加剧积累,而含水量上升时又缓解。其中 D60 时尖叶拟船叶藓超氧阴离子自由基 (O_2^-) 产生速率达到了 $(16.95 \pm 0.371) \text{ nmol min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ 干重,为正常水平的 3.6 倍;R60 后,其回复到 $(7.30 \pm 1.255) \text{ nmol min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ 干重,基本恢复恢复到正常水平 ($P > 0.05$) (图 4)。湿地甸灯藓 O_2^- 产生速率始终要明显低于尖叶拟船叶藓。两种藓类的 H_2O_2 含量的变化与 O_2^- 产生速率的趋势一致,只是在复水过程中尖叶拟船叶藓 H_2O_2 分解速率略慢 (图 5)。说明尖叶拟船叶藓的活性氧代谢对失水更为敏感,通过大量氧迸发诱导更强大的抗氧化系统来减少膜脂过氧化。

2.4.2 抗氧化酶活性的变化

活性氧的变化诱导两种藓类的 SOD、CAT、APX 活性均表现相同走势。其中尖叶拟船叶藓 SOD 活性在 D60 达到最大值 $202.1 \text{ U/mg protein}$,较最初的

$71.2 \text{ U/mg protein}$ 上升了 2.8 倍;R30 时活性则下降到 20 U/mg protein ,复水后随时间延长,SOD 酶活性差异并不显著,但低于对照原有水平 (图 5)。CAT 和 APX 活性分别在 D60 min 时出现最大值 2.7 U/mg protein 和 3.0 U/mg protein ,而复水过程中,CAT 和 APX 虽然在 R30 min 时恢复到与对照无显著差别水平 ($P > 0.05$),但随着复水时间延长,其活性明显下降,且尖叶拟船叶藓始终低于湿地甸灯藓 (图 5)。说明相对水分充沛小生境的尖叶拟船叶藓的抗氧化酶系统反应更为敏感。

2.4.3 抗坏血酸 (AsA) 含量

正常情况下,湿地甸灯藓的 AsA 含量 (2.694 mg/g 干重) 比尖叶拟船叶藓 (1.189 mg/g 干重) 高出 50% (图 5)。快速脱水与复水过程中,虽然两种藓类 AsA 含量呈现一致变化趋势,但尖叶拟船叶藓的 AsA 含量大都低于湿地甸灯藓近 1 倍。在 D30 时湿地甸灯藓比对照下降了 71%,而尖叶拟船叶藓的下降幅度则不足 48%;复水过程中,尖叶拟船叶藓在 R30 时即已恢复到原有对照水平,而湿地甸灯藓则到 R120 时才恢复到与对照一致的水平。而尖叶拟

船叶藓的 AsA 含量始终低于湿地甸灯藓,说明其由 酶促系统。
SOD 歧化产生的多余 H_2O_2 的清除可能更多依赖于

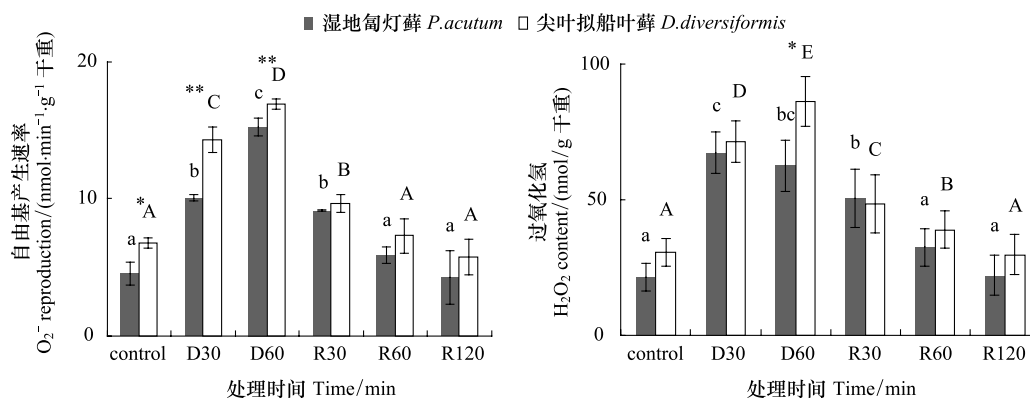


图 4 快速脱水与复水过程中尖叶拟船叶藓与湿地甸灯藓超氧阴离子产生速率和 H_2O_2 含量的变化

Fig.4 Alternation of super oxygen radical (O_2^-) reproduction rate and hydrogen peroxide (H_2O_2) content in *D. diversiformis* and *P. acutum* during dehydration and rehydration

control: 无脱水对照,D30: 脱水 30min,D60: 脱水 60min,R30: 复水 30min,R60: 复水 60min,R120: 复水 120min;不同大、小写字母表示各脱水和复水时间在 0.05 水平存在显著性差异($P<0.05$), * 表示相同脱水复水处理下不同藓种间差异的显著性 (* 表示 $P<0.05$, ** 表示 $P<0.01$)

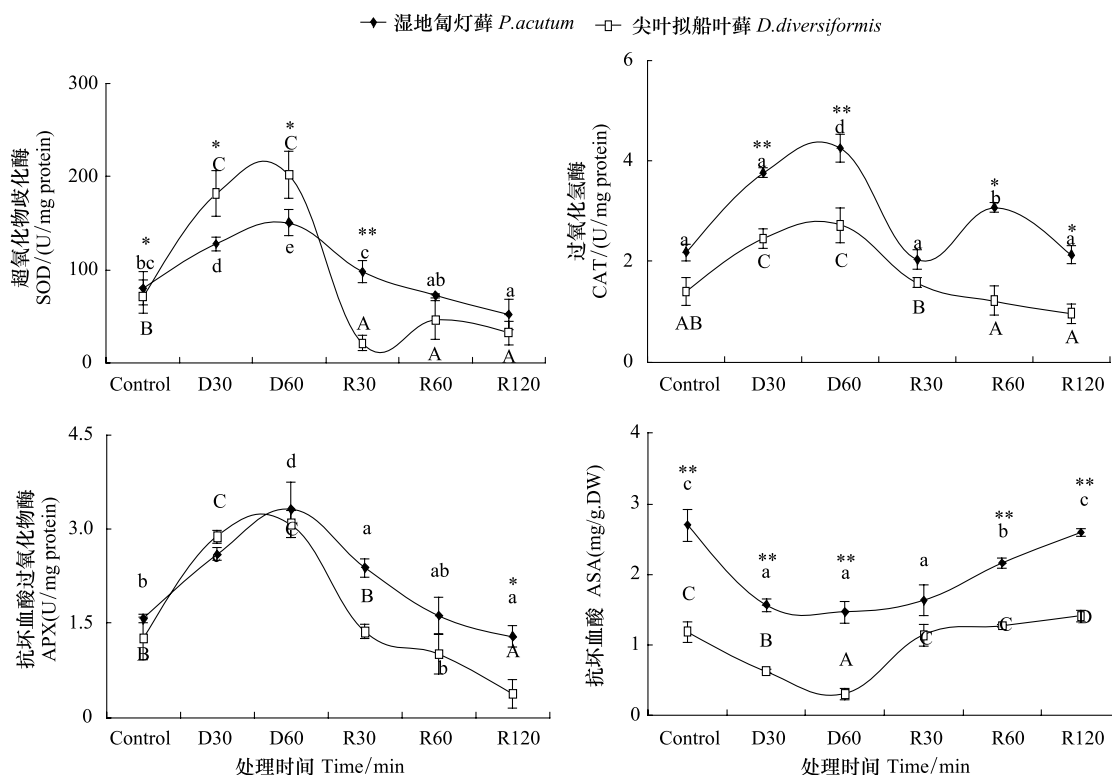


图 5 快速脱水与复水过程中尖叶拟船叶藓与湿地甸灯藓超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、抗坏血酸过氧化物酶活性和抗坏血酸含量的变化

Fig.5 Alternation of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) activities and ascorbic acid (ASA) content in *D. diversiformis* and *P. acutum* during dehydration and rehydration

control: 无脱水对照,D30: 脱水 30min,D60: 脱水 60min,R30: 复水 30min,R60: 复水 60min,R120: 复水 120min; 不同大小写字母表示各脱水和复水时间在 0.05 水平存在显著性差异($P<0.05$), * 表示相同脱水复水处理下不同藓种间差异的显著性 (* 表示 $P<0.05$, ** 表示 $P<0.01$)

3 讨论与结论

3.1 含水量

藓类植物剧烈的变温和变水效应说明了其具有超强的脱水耐性^[25]。本文的含水量实验结果表明尖叶拟船叶藓和湿地匍灯藓均具备一定的耐旱能力,而胁迫下保水能力的不同是造成两种藓类含水量变化的主要原因^[2]。根据本文结果,不难看出尖叶拟船叶藓的正常含水量要明显高于湿地匍灯藓,换言之,其对环境水分的要求要高于湿地匍灯藓。同时,在脱水与复水的变水过程中,尖叶拟船叶藓更易失水也更易得水,说明保水能力要明显弱于湿地匍灯藓。

3.2 光合荧光特性

对不同大气温度、藓体含水量及光照条件下尖叶拟船叶藓光合速率研究中,我们已发现光合速率与光照强度、大气温度及藓体含水量之间关系密切,其在 $230 < \text{PAR} < 270 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 条件下,光合速率对温度和含水量影响的灵敏度最大^[13]。而叶绿素光合荧光特性与活性氧代谢的实验结果为揭示光合机构及其所承载的光合电子传递在水分代谢过程中的生理特征提供了更为充足的直接证据。

ETR 反映实际光强条件下的表观电子传递速率,以其与有效辐照 (PAR) 建立的荧光光响应曲线可以很好的说明植物光合速率及光系统光电转换效率^[26]。本文 ETR-PAR 的变化很好地说明了尖叶拟船叶藓 PS II 对脱水胁迫较为敏感,表现在脱水过程中抑制光强和电子传递速率的快速下降^[27],即使复水至 R120 时尖叶拟船叶藓 ETR 的绝对值仍仅有对照水平 50%,暗示其 PS II 的捕光复合体修复要快于 PS II 中心色素,即尖叶拟船叶藓 PS II 的反应中心色素 (P680) 可能是其受脱水损伤的主要部位。

F_v/F_m 和 $Y(\text{II})$ 反映 PS II 反应中心的光能转换效率,其变化可直接体现植物受胁迫的情况, qP 则表示光合速率快慢与光合碳同化等光合化学反应密切相关^[28]。本文中 F_v/F_m , $Y(\text{II})$ 和 qP 均呈现在脱水时迅速下降,而在复水时渐次上升的趋势,说明两种藓类的耐脱水能力主要体现在复水后的修复能力^[29]。与湿地匍灯藓对比,尖叶拟船叶藓 F_v/F_m 和 $Y(\text{II})$ 在复水过程中恢复明显较慢,相反,其 qP 恢复迅速和复水后的高水平则体现了对于光能分配中

优先光合碳同化^[30]。NPQ 反应热耗散的变化,是保护 PS II 的重要机制,一般认为 PS II 热耗散可能是通过叶黄素循环来实现^[31]。脱水过程中 NPQ 的迅速升高,说明尖叶拟船叶藓和湿地匍灯藓可以通过启动热耗散来消耗掉过剩的光激发能,有利于其在脱水伤害中为稳定 PS II^[32]。而结合尖叶拟船叶藓复水后 F_v/F_m , $Y(\text{II})$ 的缓慢上升与 qP/NPQ 的比例迅速由 2:8 转换为 8:2 来看,能够说明尖叶拟船叶藓复水过程中 NPQ 值低于湿地匍灯藓可能与其叶黄素循环效能恢复较慢有关。

3.3 活性氧代谢与抗氧化系统酶活性

本文关于活性氧变化的研究结果说明脱水过程中光合电子传递的障碍导致了 NPQ 的迅速上升和 ETR 的急剧下降,同时也加速了单线态氧 ($^1\text{O}_2$) 的产生从而提高了 O_2^- 产生速率和 H_2O_2 含量,进而形成氧迸发 (oxygen burst) 甚至氧化胁迫 (oxidative stress)^[33-34]。同时,尖叶拟船叶藓在复水过程中仍能迅速降低活性氧代谢并恢复至正常水平,说明尖叶拟船叶藓内部的抗氧化系统能够有效清除活性氧,降低膜损伤,保护光合电子传递链完整性。

SOD、CAT、APX 是藓类植物体内清除自由基的重要保护酶类,其中 SOD 与 APX 是叶绿体中主要的 O_2^- 和 H_2O_2 清除酶,防止光合机构被破坏的另外一种方式^[35]。尽管尖叶拟船叶藓和湿地匍灯藓随着脱水下氧迸发的加剧,诱导 SOD、CAT 和 APX 抗氧化酶活性明显升高。但是相较于湿地匍灯藓,尖叶拟船叶藓在复水过程中酶活性出现不同程度的波动和下降,结合 F_v/F_m , $Y(\text{II})$ 和 ETR 的缓慢恢复的情况来看,PS II 机构恢复的缓慢可能与 SOD 活性在复水过程中的紊乱状态有关。AsA 是活性氧清除系统中的非酶促部分,它们能为 APX 提供电子,清除氧自由基,降低脂质过氧化作用^[35]。尖叶拟船叶藓始终低于湿地匍灯藓的 AsA 含量,其通过非酶抗氧化系统保护光系统的能力弱于湿地匍灯藓。

3.4 尖叶拟船叶藓受水分因子限制的生理生态原因

高等植物中的研究结果表明,光合作用的光抑制直接导致光合器官的活性氧代谢紊乱^[36],Pospisił 就认为光抑制所产生的单线态氧 ($^1\text{O}_2$) 不仅会在 PS II 光抑制过程中起到降解反应中心色素和捕光色素,并致使其发生脱色的作用,而且可以通过转化为 O_2^- 来致使 PS II 反应中心的次级供体的快速失活,从

而引起 D1 蛋白的快速降解^[37]。因此光合机构对活性氧的耐受能力和以抗氧化系统为代表的光保护机制的强弱是决定相近生境藓类植物耐受能力的关键因素。

通过将尖叶拟船叶藓与同为湿生藓类的湿地匍灯藓进行光合荧光特性和抗氧化系统的比较,不难看出尖叶拟船叶藓在光合机构稳定性和抗氧化能力上均明显弱于湿地匍灯藓。基于此,尖叶拟船叶藓受到环境水分子限制的原因主要有两个 PSⅡ 的反应中心色素(P680)对脱水伤害较为敏感;复水修复过程中抗氧化保护系统的保护能力偏弱。换言之,尖叶拟船叶藓耐脱水光保护机制的匮乏及其抗氧化系统的不完善可能是其面临濒危的主要生理因素。基于广布湿生藓类湿地匍灯藓和尖叶拟船叶藓两种湿生藓类的比较,以及与对湿度条件要求较低的金发藓的比较^[16],还可以认为,藓类植物对水分环境的适应可能直接取决于光合机构的耐受性和抗氧化系统能力的强弱。

References:

- [1] Dhindsa R S. Glutathione status and protein synthesis during drought and subsequent rehydration in *Tortula ruralis*. *Plant Physiology*, 1987, 83(4): 816-819.
- [2] 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. *Plant Ecology*, 2000, 151(1): 73-84.
- [3] Zsolt C, Proctor M C F, Tuba Z. Chlorophyll fluorescence during drying and rehydration in the mosses *Rhytidiadelphus loreus* (Hedw.) warnst., *Anomodon viticulosus* (Hedw.) Hook. & Tayl. and *Grimmia pulvinata* (Hedw.) sm. *Annals of Botany*, 1999, 84(2): 235-244.
- [4] Proctor M C F, Oliver M J, Wood A J, Alpert P, Stark L R, Cleavitt N L, Mishler B D. Desiccation-tolerance in bryophytes: a review. *The Bryologist*, 2007, 110(4): 595-621.
- [5] Oliver M J, Velten J, Mishler B D. Desiccation tolerance in bryophytes: a reflection of the primitive strategy for plant survival in dehydrating habitats? *Integrative and Comparative Biology*, 2005, 45(5): 788-799.
- [6] Wei M L, Zhang Y M, Zhang J. Microscopic and Submicroscopic Structure of Leaf Cells of *Syntrichia caninervis* Mitt. In *Biological Soil Crusts*. *Journal of Desert Research*, 2009, 29(3): 493-498.
- [7] Li X R, Zhang Y M, Zhao Y G. A Study of Biological Soil Crusts Recent Development Trend and Prospect. *Advances in Earth Science*, 2009, 24(1): 11-24.
- [8] Shi Y, Yang X J, Zhao X, Li X R. Responses of signal transduction substances of *Didymodon vinealis* and *Bryum argenteum* in biological soil crust to drought stress. *Chinese Journal of Ecology*, 2012, 31(5): 1136-1142.
- [9] Wei M L, Zhang Y M. Effects of Dehydration on Photosynthetic Pigment Content and Chlooplast Ultrastructure of *Syntrichia caninervis* in Biological Soil Crusts. *Journal of Desert Research*, 2010, 30(6): 1311-1318.
- [10] Zheng Y P, Zhao J C, Zhang B C, Li L, Zhang Y M. Advances on Ecological Studies of Algae and mosses in Biological Soil Crust. *Chinese Bulletin of Botany*, 2009, 44(3): 371-378.
- [11] Chen C Y, Li X R, Zhao X. Photosynthetic properties of two crust mosses during dehydration. *Chinese Journal of Ecology*, 2012, 31(12): 3064-3069.
- [12] Minibayeva F, Beckett R P. High rates of extracellular superoxide production in bryophytes and lichens, and an oxidative burst in response to rehydration following desiccation. *New Phytologist*, 2001, 152(2): 333-341.
- [13] Li Y J, Li J, Chen J, Huang G W. Response of *Dolichomitriopsis diversiformis* photosynthesis to light, air temperature and plant water content. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(3): 391-395.
- [14] Chen G X, Li J, Chen J, Zhu J Y, Chen J R, Liu Y D. A preliminary study on the community environment of *Dolichomitriopsis diversiformis* (Mitt) Nog. In Mt. Fanjing, Guizhou, China. *Guizhou Science*, 2001, 19(4): 81-84.
- [15] Chen J, Liu B, Li J, Jiang D S. Relationship between the distribution and the environmental factors in epiphytic moss *Dolichomitriopsis diversiformis*. *Journal of Jishou University (Natural Sciences Edition)*, 2006, 27(5): 85-88.
- [16] Du X M, Li J, Tian X R, Li Z Y. Reactive Oxygen Species Metabolism and Lipid peroxidation of *Polytrichum commune* and *Plagiomnium acutum* during Fast Drying and rehydration. *Acta Botanica Boreali -occidentalia Sinica*, 2012, 32(11): 2279-2285.
- [17] Vertucci C W, Roos E. Theoretical basis of protocols for seed storage II. The influence of temperature on optimal moisture levels. *Seed Science Research*, 1993, 3(3): 201-203.
- [18] Du X M, Tian X R, Li J, Shi J X. Comparison on Alternation of Chlorophyll Fluorescence Between *Polytrichum commune* and *Plagiomnium acutum* During Dehydration and Rehydration. *Life Science Research*, 2012, 16(6): 521-525.
- [19] Bors W, Lengfelder E, Saran M. Oxidation of hydroxylamine to nitrite as an assay for the combined presence of superoxide anions and hydroxyl radicals. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1977, 75(4): 973-979.
- [20] Patterson B D, Macrae E A, Ferguson I B. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium (IV). *Analytical Biochemistry*, 1984, 139(2): 487-492.

- [21] Jiang M Y, Zhang J H. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Plant Cell Physiology*, 2001, 42(11): 1265-1273.
- [22] Donahue J L, Okpodu M C, Cramer C L, Grabau E A, Alscher R G.. Responses of antioxidants to paraquat in pea leaves (Relationships to resistance). *Plant Physiology*, 1997, 113(1): 249-257.
- [23] Mishra N P, Mishra R K, Singhal G S. Changes in the activities of anti-oxidant enzymes during exposure of intact wheat leaves to strong visible light at different temperatures in the presence of protein synthesis inhibitors. *Plant Physiology*, 1993, 102(3): 903-910.
- [24] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1/2): 248-254.
- [25] Oldenhof H, Wolkers W F, Bowman J L, Tablin F, Crowe J H. Freezing and desiccation tolerance in the moss *Physcomitrella patens*: An in situ fourier transform infrared spectroscopic study. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2006, 1760(8): 1226-1234.
- [26] Genty B, Briantais J M, Baker N R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1989, 990(1): 87-92.
- [27] Fu W G, Li P P, Wu Y Y. Effects of different light intensities on chlorophyll fluorescence characteristics and yield in lettuce. *Scientia Horticulturae*, 2012, 135: 45-51.
- [28] Lichtenthaler H K, Miehe J A. Fluorescence imaging as a diagnostic tool for plant stress. *Trends in Plant Science*, 1997, 2(8): 316-320.
- [29] Oliver M J, Cushman J C, Koster K L. Dehydration tolerance in plants. *Methods in Molecular Biology*, 2010, 639: 3-24.
- [30] Misra A N, Srivastava A, Strasser R J. Utilization of fast chlorophyll a fluorescence technique in assessing the salt/ion sensitivity of mung bean and Brassica seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 2001, 158(9): 1173-1181.
- [31] Dugald C D, Beadle C L. Xanthophyll-cycle dynamics and rapid induction of anthocyanin synthesis in *Eucalyptus nitens* seedlings transferred to photoinhibitory conditions. *Journal of Plant Physiology*, 2005, 162(1): 37-46.
- [32] Zhao L Y, Deng X P, Shan L. The Response Mechanism of Active Oxygen Species System to Drought Stress. *Acta Botanica Boreali - occidentalia Sinica*, 2005, 25(2): 413-418.
- [34] Fu S L, Zhou Y B, He X Y, Chen W. Effects of drought stress on photosynthesis physiology of *Populus pseudo-sinonii*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(11): 2016-2019.
- [33] Pompelli M F, Barata-Luís R, Vitorino H S, Gonçalves E R, Rolim E V, Santos M G, Almeida-Cortez J S, Ferreira V M, Lemos E E, Endres L. Photosynthesis, photoprotection and antioxidant activity of purging nut under drought deficit and recovery. *Biomass and Bioenergy*, 2010, 34(8): 1207-1215.
- [35] Charron A J, Quatrano R S. Between a Rock and a dry place: the water-stressed moss. *Molecular Plant*, 2009, 2(3): 478-486.
- [36] Xu Z F, Luo G H, Wang A G. Photoinhibition of Photosynthesis and the Metabolism of Active Oxygen in Photosynthetic Organs. *Plant Physiology Journal*, 1999, 35(4): 325-331.
- [37] Pospíšil P. Molecular mechanisms of production and scavenging of reactive oxygen species by photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2012, 1817(1): 218-231.