

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2012.05.011

屋顶绿化植物佛甲草对温度梯度的生理生态适应

余孟好, 赵平*, 曾小平, 倪广艳

(中国科学院华南植物园, 广州 510650)

摘要: 以屋顶生长的佛甲草为材料,通过光照培养箱进行不同温度条件处理,分别测量了叶片的CO₂交换、叶绿素含量、叶绿素荧光参数以及植株不同部位的碳同位素比率变化($\delta^{13}C$)。结果表明:持续高温/低温、较大的昼夜温差和叶表面风力的条件下,佛甲草为适应环境变化,光合会由C₃代谢途径转变成景天酸代谢途径(CAM),是兼性CAM植物。短期降温会使叶片光系统II(PSII)发生不可逆失活,光合能力下降;复水后有助于PSII的恢复和重建,而干旱天气会减缓恢复过程;在不利温度环境中生长的佛甲草老叶掉落较多,剩余叶片的叶绿素含量和Fv/Fm值增高,光合能力提高。 $\delta^{13}C$ 测定结果显示,高温使嫩叶气孔导度降低,对成熟叶片气孔导度影响小,佛甲草茎秆虽然含有叶绿素,但没有明显的光合作用。

关键词: 佛甲草; 景天酸代谢; 温度

中图分类号: S566.101 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2012)03-0333-07

Ecophysiological adaptation of green roof plant *Sedum lineare* to temperature variation

YU Meng-Hao, ZHAO Ping*, ZENG Xiao-Ping, NI Guang-Yan

(South China Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650)

Abstract: To investigate physiology of *S. lineare* planted in adverse environment, we conducted measurements of gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters in leaves of *S. lineare* that grew in roof and was cultivated in a light incubator for temperature experiment. We also measured carbon isotope ratio ($\delta^{13}C$) in different organs of *S. lineare* grown in the incubator under different temperatures for 30 days. Main results were as follows: Long term treatment of high/low temperature, high diurnal temperature difference between day and night and high leaf boundary layer conductance altered by wind force could lead to inactivation of photosystem II in leaves of *S. lineare* and to the switch of C₃ photosynthetic pathway to CAM, indicating that *S. lineare* was a facultative CAM plant; Short term chilling caused irreversible inactivation of photosystem II in leaves of *S. lineare*; Rehydration would help the recovery of photosystem II, but such recovery would be delayed under dry condition. Planted in an adverse temperature environment would bring about defoliation, and the chlorophyll contents and chlorophyll fluorescence parameters would increase in the remaining leaves of *S. lineare*. When planted with sufficient water supply, mature leaves of *S. lineare* did not show a temperature-sensitivity, but the young leaves would; The measured $\delta^{13}C$ showed decrease of leaf stomatal conductance of young leaves, but no effect on that of old leaves caused by high temperature. The stems, though containing chlorophyll, did present significant photosynthetic capacity.

Key words: *Sedum lineare*; crassulacean acid metabolism; temperature

* 收稿日期: 2011-09-17 修回日期: 2011-12-23

基金项目: 国家自然科学基金(30871998, 41030638, 31170673)[Supported by the National Natural Science Foundation of China(30871998, 41030638, 31170673)]

作者简介: 余孟好(1985-), 男, 广西河池人, 硕士, 研究方向为植物生理生态学, (E-mail) howehouse@163.com。

* 通讯作者: 赵平, 男, 博士, 研究员, 研究方向为植物生理生态学、生态系统生理学, (E-mail) zhaoping@scib.ac.cn。

植物的光合作用代谢途径划分为 C_3 、 C_4 和景天酸代谢(CAM), CAM植物的叶片气孔在日间温度和水汽压亏缺(VPD)较高时开度变小或关闭, 夜间温度和 VPD 较低, 气孔开放进行气体交换, 积累有机酸提高细胞渗透势, 以便吸收更多水分(Lüttge, 2004), 提高水分的利用效率(WUE)(Osmond, 1978; Kluge & Ting, 1978; Winter & Smith, 1996)。所以, CAM植物适合在沙漠、戈壁、盐碱地等干旱环境(如仙人掌能生长在极度缺水的环境)生长。有些 CAM植物在不同的光照强度和昼夜温度、以及生命周期不同阶段可进行不同光合途径的转换而被称之为兼性 CAM植物, 在昼夜温差较大时会由 C_3 代谢转变成 CAM代谢, 但它们对绝对温度不敏感(Haag-Kerwer 等, 1992), 而有些 CAM植物在恒温条件下生长良好(Lüttge & Beck, 1992)。CAM不仅仅是植物对缺水 and 极端温度环境的适应, 也是维持植物碳平衡以利于繁殖的重要代谢策略(Herrera, 2009)。CAM植物常被应用于屋顶绿化, 其中佛甲草的种植应用比较广泛。随着城市绿地面积锐减和热岛效应的加剧, 大力推广屋顶绿化, 改善居住环境和提高生活质量, 无疑是一项重要的生态工程。屋顶环境最明显特征是光照强烈、温度高、昼夜温差大, 佛甲草如何适应屋顶的生态环境是我们关注的问题。本文通过观测佛甲草对温度变化的生理生态响应, 借助培养箱研究佛甲草对温度梯度的适应策略, 为进一步在城区发展和推广佛甲草的绿化应用提供理论和实验依据, 制定有效的种植和管理措施。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试佛甲草材料取自广州市区 4 个屋顶绿化试验点(分别于 2003、2004、2005 和 2008 年种植), 所有种植基质的配方相同。从各个试验点中随机取 6 个样品, 实验前将植物连同基质移至 20 cm×10 cm×8 cm 的塑料盘中, 在距底部 1 cm 盘壁处开凿若干排水小孔, 排掉盘中多余的雨水, 放置在华南植物园实验大楼屋顶, 自然状态下生长, 不进行人工浇水与施肥。

1.2 培养箱温度梯度实验

温度培养实验于 2010 年 11 月在实验室进行, 采用 RH-250 光照培养箱(广东省医疗器械厂, 中

国)培养。参照广州夏冬季节的最高和最低温度设置温度梯度, 将佛甲草样品分成 4 组, 每组 3 盆重复, 培养箱每天 7:00~18:00 时进行光通量强度均为 10 000 lx 的人工光照, 其余时间关闭光源。A 组光照时温度为 10 °C, 无光照温度降至 5 °C; B 组光照时温度设置为 15 °C, 无光照时 5 °C; C 组参照高温环境, 光照时温度设置为 40 °C, 无光照时 30 °C; D 组作为对照置于楼顶自然条件下生长。每天浇水至田间持水量, 观察佛甲草样品生长状况并测量相关参数, 1 周后叶片凋落较多时只测量夜间气体交换, 30 d 后测量各部位的碳同位素比率。

1.3 气体交换参数

采用 Licor-6400 便携式光合测定系统(LI-COR, 美国)测定叶片的气体交换参数。由于佛甲草叶为肉质轮生叶, Licor-6400 配备的叶室不适用于佛甲草叶片的气体交换测定, 我们结合仪器特点和叶片形状, 自行设计圆柱形叶室, 将轮生叶通过开关按钮自然直立于叶室中, 茎部穿过叶室底部中央可调节松紧的小孔, 形成密封状态, 气路循环系统保持不变。干旱连续 48 h 测量每盆的佛甲草, 各组 3 次重复。对不同温度处理样品, 每天 22:00 时测量各种处理的 4 个样本的气体交换, 3 次重复。首先假定佛甲草叶面积为 10 cm², 测量结束后将实际测定的叶面积输入主机, 重新计算气体交换的测定指标。

1.4 叶绿素荧光参数

叶绿素荧光参数测量参照 Schreiber(1986)方法, 用脉冲调制荧光仪(PAM, Walz, Germany)测定叶片的叶绿素荧光曲线。由于佛甲草叶片太小, 无法测量单叶的荧光参数, 每次需随机选取不同植株的 3 个叶片进行一次性测量, 每组 3 次重复, 每天 22:00 时待植物充分暗适应后进行测定。初始荧光 F_0 是用暗适应的叶片在弱调制测量光(0.05 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)下诱导产生, 最大荧光 F_m 则是在 F_0 之后用强饱和和脉冲(500 $\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)激发, 根据 F_0 和 F_m 计算 F_v/F_0 , 以及 $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ 。

1.5 叶片叶绿素含量

采用丙酮比色法测定同时用于荧光参数测量的佛甲草叶绿素含量, 每次称取新鲜样品 0.1 g, 研磨、过滤并定容至 10 mL, 以 80% 丙酮为空白对照, 利用 UV-3802 型紫外可见光度计(Unico, 美国)在波长 663 nm、645 nm 下测定光密度。计算叶绿素 a 和 b 含量:

$$C_a = 12.7 \cdot OD_{663} - 2.69 \cdot OD_{645}$$

$$C_b = 22.9 \cdot OD_{645} - 4.68 \cdot OD_{663}$$

$$C_T = C_a + C_b$$

其中, C_a 为叶绿素 a 含量, C_b 为叶绿素 b 含量, C_T 为总叶绿素含量, 单位 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.6 叶片碳同位素比率

不同温度处理 30 d 后, 从 12 盘佛甲草样品中每盘随机选取一株佛甲草样品, 利用中国科学院广州地球化学研究所的 MAT-252 稳定同位素质谱仪, 测定植株成熟叶片、嫩叶和茎的碳同位素比率

($\delta^{13}\text{C}$)。

$$\delta^{13}\text{C} = [R_a/R_{s+d} - 1] \times 1000$$

式中, R_a 和 R_{s+d} 分别为空气和 PDB 标准样品的 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 摩尔比率。

1.7 数据处理

用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS 18.0 对实验数据进行处理及统计分析, 测定结果取平均值 \pm 标准误, 根据实验目的对数据进行 t 检验、单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和最小显著差法 (LSD), 以 Microsoft Excel 2003 和 Sigmaplot 9.0 制作图表。

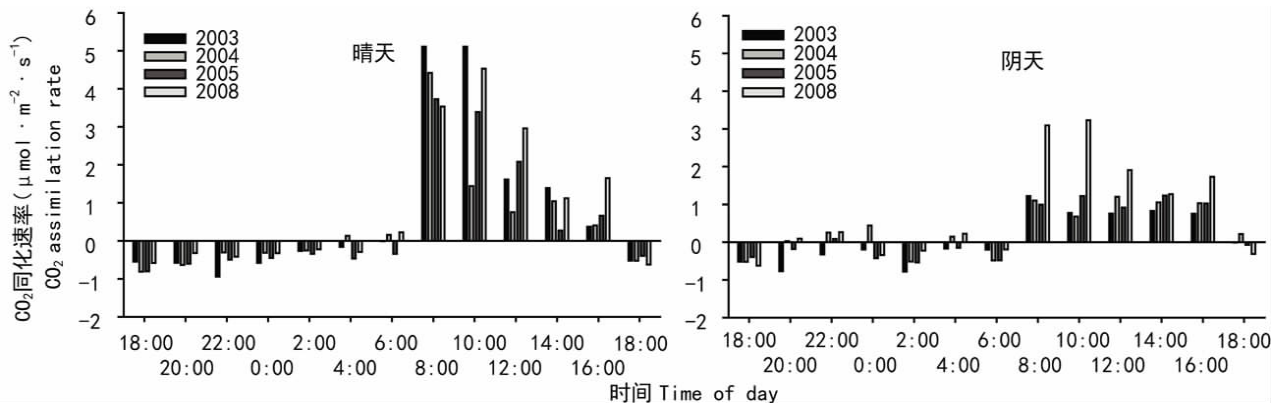


图 1 不同种植年份佛甲草 CO_2 交换的昼夜变化

Fig. 1 Diurnal course of CO_2 exchange in leaves of *S. lineare* of different ages (mean \pm SE, $n=3$ plants)

2 结果与分析

2.1 佛甲草叶片 CO_2 同化速率的昼夜变化

如图 1 所示, 在晴朗高温 ($23 \sim 32^\circ\text{C}$) 天气, 4 组不同年份佛甲草夜间基本上为 CO_2 释放, 阴天夜间的 CO_2 交换有正有负, 显示部分佛甲草转换成 CAM 模式, 而个别植株还是维持 C_3 代谢模式。晴天夜晚 18:00~4:00 时, 佛甲草的 CO_2 交换速率不同, 但都为负值; 18:00~0:00 时 CO_2 释放速率较大, 0:00~6:00 时, 逐步下降。6:00 时 2004 和 2008 年样品的 CO_2 同化速率超过了光合补偿点, 出现净 CO_2 吸收; 2005 年样品呼吸速率仍大于光合作用, 2003 年样品则刚刚到达光补偿点。从 8:00 时开始, 逐渐增强的太阳辐射为光合作用提供了足够能量, CO_2 吸收速率迅速增高。阴天多云天气, 18:00 时由于太阳辐射消失, 植物以呼吸作用为主, 22:00~4:00 时, 2004、2005 和 2008 年的样品出现 CO_2 的净吸收; 紧接下来的日间, 这 3 组佛甲草的 CO_2 吸收速率较稳定, 可能是夜间吸收的 CO_2 为白天的

光合作用提供充足的碳源; 而 2003 年种植的样品由于夜间消耗太多 CO_2 , 日间用于光合作用的有机物减少, 加上阴天辐射较弱, 光合速率下降明显。

2.2 不同温度下代谢途径的转换

在判定佛甲草是兼性 CAM 植物后, 以培养箱测试持续高温/低温及不同昼夜温差对光合途径的影响。表 1 是移植后第 1、7、14 和 21 天 22:00 时各温度下佛甲草 CO_2 的交换状况。处理第 1 天, 水分供应充足, 不同温度下的佛甲草夜间出现净 CO_2 释放, 以 C_3 代谢途径为主。处理 1 周后, A、B 和 C 组佛甲草仍为 C_3 代谢, 而室外 23°C 环境下生长的 D 组转变成 CAM, 原因可能是秋冬季节太阳辐射仍然较强, 而大部分叶片衰老后光合能力下降, 容易出现光抑制, 转变成 CAM 能提高叶片内部 CO_2 浓度, 降低光抑制影响; 或者屋顶的风力使叶表面与空气界面层导度增大, 蒸腾失水增多, 引起代谢途径转换。第 14 天, 4 组佛甲草夜间均为 C_3 代谢途径。第 21 天, $5 \sim 10^\circ\text{C}$ 温度环境中生长的 A 组佛甲草仍为 C_3 途径, 而在 $5 \sim 15^\circ\text{C}$ 环境生长的 B 组、 $30 \sim 40^\circ\text{C}$ 高温环境生长的 C 组和自然温度 (23°C) 中生长

的D组佛甲草均为CAM。CAM植物有平衡每天吸收C量的趋势(Winter等,1996),B组在5~15℃环境下转变成CAM,是为了提高植物总碳同化量,或者是昼夜温差较大引起代谢途径变化。C组在30~40℃高温环境下转变成CAM,则是日间温度超过了佛甲草最适生理温度,CO₂吸收受限制,

CAM夜间吸收的CO₂能维持植物的生物量。D组转变成CAM可能是为了提高叶片内部CO₂浓度,降低光抑制的影响。A组佛甲草在最低温度下保持了夜间CO₂释放,是由于白天气温低,光合作用效率低,不能为夜间的CO₂吸收提供足够的代谢底物,而且CAM需要的能量相对更多,培养箱光照条

表1 不同温度处理后各时段佛甲草的CO₂交换

Table 1 CO₂ exchange of *S. lineare* plants for various time periods under different temperature (mean±SE, n=3 plants)

各时段的佛甲草CO ₂ 同化速率 CO ₂ assimilation in different time(μmol m ⁻² ·s ⁻¹)	A	B	C	D
第1天 on the 1st day	-0.55±0.12	-0.27±0.13	-0.40±0.13	-0.20±0.19
第7天 on the 7th day	-0.29±0.08	-0.48±0.08	-0.10±0.02	0.45±0.03
第14天 on the 14th day	-0.22±0.05	-0.67±0.21	-0.39±0.02	-0.18±0.03
第21天 on the 21st day	-0.35±0.002	0.13±0.02	0.36±0.05	0.34±0.18

注:气体交换测量在22:00时进行;A:白天温度10℃,夜间5℃;B:白天温度15℃,夜间5℃;C:白天温度40℃,夜间30℃;D:自然温度。下同。

Note: Measurements were made at 22:00; A: 10°C/5°C in the day/at night; B: 15°C/5°C in the day/at night; C: 40°C/30°C in the day/at night; D: ambient temperature. The same below.

件不容易满足其代谢途径改变后所需的能量。

2.3 叶绿素荧光参数

许多CAM植物对耐受限度范围内的持续高温或低温不敏感,对温度的变化则比较敏感(Haag-Kerwer等,1992)。由图2可见,当环境温度由27℃降至22℃,佛甲草叶片最大荧光值 F_m 迅速下降,初始荧光值 F_o 增加,造成光合系统II(PSII)的电子传递效率 F_v/F_m 值大幅下降。气温回升, F_m 值仍缓慢下降, F_o 值变化小, F_v/F_m 值回升小,说明佛甲草对降温敏感,降温造成叶片PSII发生不可逆失活。

将不浇水处理的屋顶佛甲草移入培养箱进行复水实验,图3是4组佛甲草由干旱复水后的荧光参数变化情况:A组转移到培养箱后,由于水分充足和箱内环境温度较低(5~10℃), F_o 值缓慢上升,而充足的水分使PSII有一定程度恢复, F_m 值逐渐上升并抵消了 F_o 的上升, F_v/F_m 值在前两天无明显变化;第3天PSII逐渐恢复, F_o 值下降, F_m 值仍缓慢上升, F_v/F_m 值大幅上升。B组的日间温度由于比A组相对较高,PSII受限过程较慢, F_o 和 F_m 值变化幅度小,但前两天 F_o 和 F_m 值仍缓慢上升;从第3天开始,由于对低温的适应性以及水分对光合系统受低温影响的缓解作用, F_m 值开始稳定, F_o 值明显下降, F_o/F_m 值大幅上升,最大光量子产量增大。C组 F_o 值先小幅增长,再略有下降并保持稳定, F_m 在前两天则基本保持不变,显示佛甲草光合

器官对高温的适应性;得益于 F_m 的稳定和 F_o 的下降,佛甲草从第3天开始 F_v/F_m 值大幅上升,随后保持较稳定状态。D组在自然环境下生长,由于生长环境无变化,而水分得到补充,前3天的 F_o 值和 F_m 值缓慢上升,但前者上升相对较快引起 F_v/F_m 值小幅度下降;第4天开始,因为PSII得到较长时间恢复, F_o 值下降,而 F_m 值仍较稳定, F_v/F_m 值大幅上升,光合能力提高。

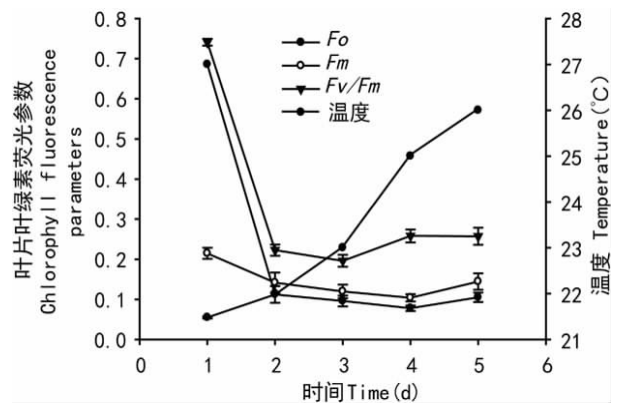


图2 降温后佛甲草叶绿素荧光参数变化

Fig. 2 Changes of chlorophyll fluorescence parameters in leaves of *S. lineare* after short time chilling (mean±SE, n=3 plants)

2.4 叶绿素含量变化

图4显示经过不同温度处理1周后样品的叶片叶绿素含量变化。处理前4组佛甲草叶片叶绿素含量分别为(0.13±0.08)、(0.21±0.12)、(0.13±

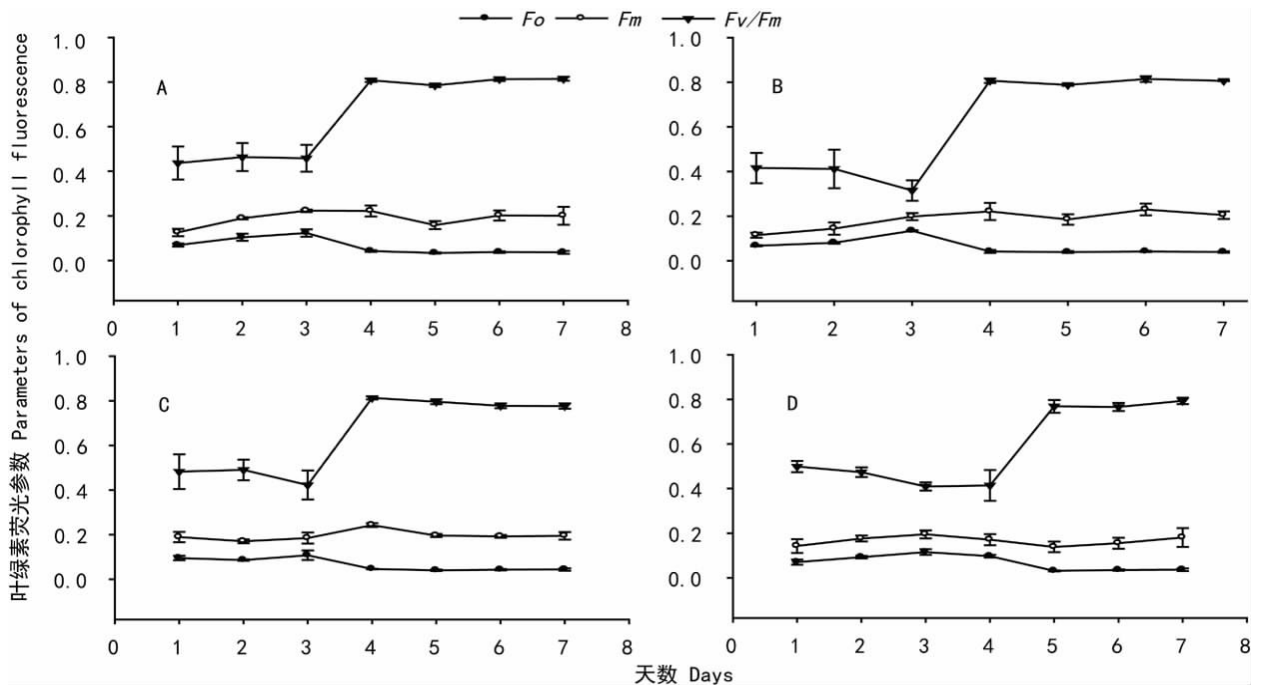


图 3 干旱复水后叶绿素荧光参数变化

Fig. 3 Change of chlorophyll fluorescence parameters in leaves of *S. lineare* after rehydration (mean±SE, n=3 plants)

0.07)、(0.13±0.07) mg·g⁻¹, 没有显著差异, 说明在同一环境下生长的不同种植年份的佛甲草对资源的竞争利用比较均衡, 叶片光合能力差别不显著。培养 1 周后, A 组的老叶片掉落较多, 剩余叶片叶绿素含量则上升至(0.21±0.01) mg·g⁻¹, 与处理前含量有显著差异(P<0.05)。B 组剩余叶片叶绿素含量(0.231±0.002) mg·g⁻¹, 与处理前浓度有显著差异(P<0.05)。C 组剩余叶片叶绿素含量升高至(0.39±0.14) mg·g⁻¹, 与处理前有极显著差异。D 组剩余叶片叶绿素含量升高至(0.35±0.05) mg·g⁻¹, 处理前后有极显著差异。在不利温度下生长, 佛甲草老叶片掉落较快, 剩余叶片的叶绿素含量显著提高, 体现了佛甲草采取落叶减少维持生长所需能量, 同时提高剩余叶片的光合能力的生长策略。在高温和自然温度下生长的样品前后叶绿素含量差异极显著, 说明佛甲草对较高温度的适应能力比对低温强。

2.5 碳同位素比率变化

图 5 是不同温度处理 30 d 后佛甲草植株各部分的碳同位素比率(δ¹³C)平均值。A 组嫩叶 δ¹³C 比茎高 0.3‰, 茎的 δ¹³C 比成熟叶片高 2.53‰, 各部位差异不显著。B 组嫩叶 δ¹³C 比茎高 1.3‰, 茎比成熟叶片高 1.1‰, 成熟叶片和嫩叶的 δ¹³C 存在

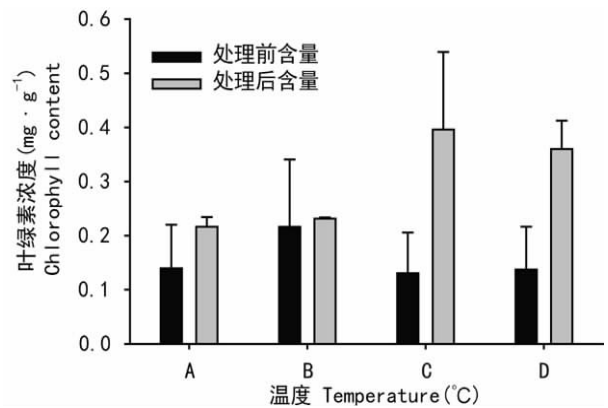


图 4 不同温度处理一周后叶绿素含量的变化

Fig. 4 Effects of different temperature on chlorophyll contents in leaves of *S. lineare* after one-week treatment (mean±SE, n=3 plants)

显著差异(P<0.05)。C 组嫩叶 δ¹³C 比茎高 2.66‰, 茎比成熟叶片高 1.27‰, 各部分间无显著差异。与前面 3 组不同, D 组茎 δ¹³C 比嫩叶高 0.8‰, 嫩叶比成熟叶片高 1.87‰; 茎和成熟叶片 δ¹³C 有极显著差异(P<0.01), 嫩叶与成熟叶片的差异显著(P<0.05), 说明高温下嫩叶与成熟叶片的 CO₂ 交换活动存在差异。

如果对比不同组处理相同器官的 δ¹³C, A 组的茎 δ¹³C 最低, 为(-28.90±0.95)‰, B 组、D 组分别

次之, C 组最高, 为 $(-27.86 \pm 0.58)\%$, 但各种处理间差异没有达到显著水平。茎部 $\delta^{13}\text{C}$ 差别小, 显示新合成有机物的运输过程中没有显著的分馏作用, 由于茎的 $\delta^{13}\text{C}$ 只反映了之前生长的环境条件的影响, 说明茎秆虽然含有叶绿素, 但光合作用不明显。对于成熟叶片的 $\delta^{13}\text{C}$, C 组最高, 为 $(-29.13 \pm 1.83)\%$, 显示了佛甲草成熟叶片对高温具有较强的适应能力, B 组的 $\delta^{13}\text{C}$ 次之, 为 $(-29.96 \pm 0.95)\%$,

A 组为 $(-30.93 \pm 0.71)\%$, D 组最低, 为 $(-31.43 \pm 0.60)\%$, 各组的 $\delta^{13}\text{C}$ 间也没有显著差异, 显示不同气温对成熟叶片 $\delta^{13}\text{C}$ 影响不明显, 气孔导度受抑制程度小。对于嫩叶, C 的 $\delta^{13}\text{C}$ 最大, 为 $(25.2 \pm 0.75)\%$, B 组次之, 比率为 $(27.56 \pm 0.29)\%$, A 组为 $(28.6 \pm 1.01)\%$, D 组为 $(29.06 \pm 0.14)\%$ 。C 组尖叶与 B 组、D 组的 $\delta^{13}\text{C}$ 差异显著 ($P < 0.05$), 与 A 组差异极显著 ($P < 0.01$), 显示高温下佛甲草叶片

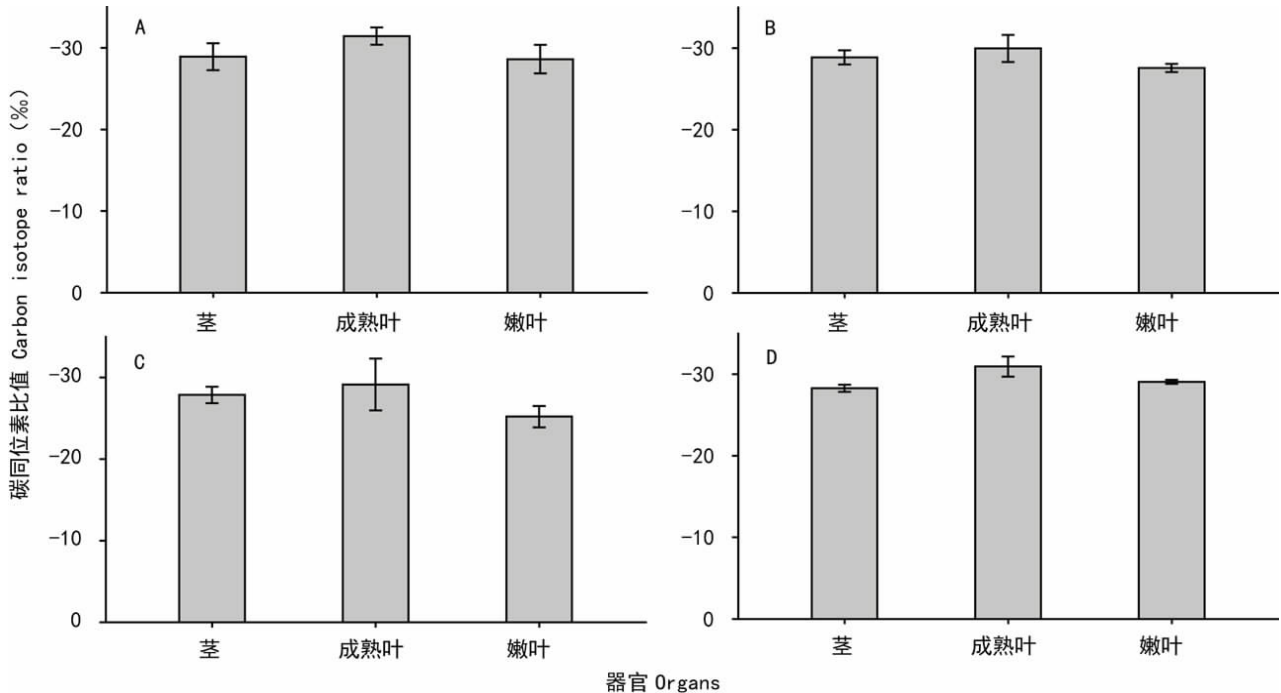


图 5 不同温度培养 30 d 后佛甲草不同部位碳同位素比率 (a, b 表示在 $P \leq 0.05$ 水平上差异显著)

Fig. 5 Carbon isotope ratios in different parts of *S. lineare* with different temperature treatment for 30 d (a, b indicate significant differences between means at $P \leq 0.05$ level; mean \pm SE, $n = 3$ plants)

气孔对生理活动的控制作用较强, 水分利用效率高。在不利环境下, 老叶片掉落较多, 嫩叶水分利用效率和光合能力的提高, 适于抵抗不利环境条件影响。

3 结论与讨论

兼性 CAM 植物通过由 C_3 代谢途径到 CAM 的转换以适应不利环境条件 (Walter, 2008), 同时也是为了保持植物碳平衡 (Herrera 等, 2009), 提高叶片内部 CO_2 浓度以提升光合速率 (Ceusters 等, 2009)。由 C_3 代谢途径转为 CAM 时, 兼性 CAM 植物叶片生长会停止, 所有的碳水化合物用于夜间同化 CO_2 的反应底物。干旱条件下佛甲草代谢途径转变成 CAM, 提高了 WUE, 表现出潜在的适应能力, 同时利用植物贮存的碳水化合物进行夜间

CO_2 同化, 而且 CAM 比 C_3 代谢需要更多光量子 (Johnson 等, 1993)。但是, 即使佛甲草在夜间进行 CO_2 吸收, 但吸收量较少, 属于弱 CAM 植物。兼性 CAM 植物对耐受限度范围内的绝对高温/低温不敏感, 而昼夜温差加大会促进代谢途径的转换 (Haag-Kerwer 等, 1992)。移植至培养箱后, A 组佛甲草在 $5 \sim 10^\circ\text{C}$ 温度环境生长, 观测时段没有出现夜间 CO_2 吸收; B 组在 $5 \sim 15^\circ\text{C}$ 温度环境生长出现夜间 CO_2 吸收, 可能是不同昼夜温差的持续影响导致代谢途径的差别; C 组在 $30 \sim 40^\circ\text{C}$ 温度环境下生长也出现夜间 CO_2 吸收, 猜测是植物为适应高温后伴随出现的干旱而作出的前馈反应; D 组生长在屋顶环境, 夜间 CO_2 吸收出现的频率更高, 因为屋顶空气流动大, 叶片蒸腾失水加快, 佛甲草通过代谢途径的转变适应易于失水的环境。影响兼性 CAM

植物代谢途径的环境因子很多,佛甲草在不同环境条件下选择哪种代谢途径,关键取决于起限制作用的主要环境因子。

干旱条件下 F_v/F_m 值的下降更多是由于 F_o 增高引起的,突然降温 F_o 值上升, F_v/F_m 值大幅下降,说明佛甲草对温度变化敏感。移植至培养箱后 4 组佛甲草从不利温度环境生长到重新获得水分,叶片 F_v/F_m 值均有明显恢复,显示水分是秋季限制佛甲草生理活动的最主要因素,而充足的水分有助于维持光合系统的活性。从屋顶到培养箱,佛甲草光合能力恢复进程表明即使土壤水分充足,干旱空气也会影响叶片的生理活动。

叶绿体是光合反应的场所,叶绿素含量决定植物转化接收太阳辐射的效率。叶绿素含量与植物种类有关,也与叶片所获得的资源量有关。自然环境下生长不同年龄的佛甲草叶片叶绿素含量接近,显示不同生长期的佛甲草都能充分利用资源,叶片形态建设达到最佳;而光合能力差异不显著,也说明被测植株在竞争中有自己独特的优势。经过不同温度处理一周后,大量老叶片掉落,而剩余叶片的叶绿素含量反而均有增加。其中高温处理的叶绿素含量增加极显著,低温和自然生长样品有显著提高,这是佛甲草为了减少维持生命所需的能量,以老叶掉落的方式减少能量需求,并将老叶中营养物质转移到新叶,使新叶的叶绿素含量明显增加,说明佛甲草生理活性的改变较适合高温环境。

对 C_3 作物的研究显示,不同部位的 $\delta^{13}C$ 不同,根部比叶片和茎秆更易富集 ^{13}C ,同化物在植物各部分分配和运输会产生碳同位素的分馏(Zhao 等, 2004; Farquhar 等, 1984; Hubrick 等, 1989),水分因素对 $\delta^{13}C$ 影响最明显,温度对 $\delta^{13}C$ 的影响较复杂。温度培养箱试验显示,4 组佛甲草各部位 $\delta^{13}C$ 低于 C_3 植物平均值 (-26%),说明佛甲草在生长周期的大部分时间的光合代谢主要是 C_3 途径。随着处理温度增高,各实验样品 $\delta^{13}C$ 值增高,初步推测是温度增高后呼吸作用活跃,优先利用含 ^{12}C 的较轻的化合物,致使 $\delta^{13}C$ 不断提高。4 组佛甲草样品茎部的 $\delta^{13}C$ 比较接近,说明茎部物质大部分是实验处理前合成的,代表的是佛甲草长期的生长状况,反映了茎部气体交换活动很微弱或者不存在,茎部可能没有光合作用,导致 $\delta^{13}C$ 差别小。由于从光合产物转化成次生产物时也存在分流,植物体内不同组织和器官 $\delta^{13}C$ 值尽管差值较小但会有所不同(Brugnoli

等, 1988; Lauteri 等, 1993)。植物吸收大气 CO_2 到有机质的形成,以及有机质在植物体各部位之间的运输,都可能存在碳同位素分流(Ning 等, 2002),这是 4 组佛甲草成熟叶片 $\delta^{13}C$ 值均低于茎和嫩叶的原因。较低的 $\delta^{13}C$ 意味着较低的 WUE,说明在不利温度下佛甲草对成熟叶片气孔导度的控制比较粗放;而嫩叶的 $\delta^{13}C$ 普遍较茎和大叶的值高,说明嫩叶对环境条件变化敏感,能迅速改变自身生理活动来适应环境, WUE 相应提高(Farquhar 等, 1982; Winter 等, 1982)。Urey 等(1947)首先提出,不同温度下植物合成的化合物 ^{13}C 的数量可能不同。Huc 等(1994)研究结果表明,相同栽培条件下,先锋种比后期种具有较小的 $\delta^{13}C$ 值,即较低的 WUE;但同时表现出对水分和养分摄取上更高的竞争力, $\delta^{13}C$ 较低显示佛甲草有速生物种的生长特征,在种植后能迅速生长至最佳生理状态,有利于绿化管理。嫩叶较高的 $\delta^{13}C$ 值,表明嫩叶的生长受气孔的控制较强,对不利环境条件适应能力较强。老叶不断掉落的情况下,剩余叶片以及整个植株的 WUE 也会提高,这是植物对伴随高温的干旱作出的前馈反应(Shulze, 1986)。

佛甲草通过 C_3 代谢途径到 CAM 的转换提高 WUE,在不利温度条件下老叶掉落以减少维持生命所需能量,提高剩余叶片光合能力,以适应不利环境条件,较适宜在屋顶大规模种植。要准确判定佛甲草代谢途径变化的温差、水分状况等环境条件的临界值,尚需长期观测和对更多生理生态指标的分析,多角度地观测它们对胁迫的忍耐能力和生理状况。

参考文献:

- Brugnoli E, Hubick KT, von Ceammerer S, et al. 1988. Correlation between the carbon isotope discrimination in leaf starch and sugars of C_3 plants and the ratios of intercellular and atmospheric partial pressures of carbon dioxide[J]. *Plant Physiol*, **88**(4): 1418-1424
- Ceusters J, Borland AM, Proft PD. 2009. Drought adaptation in plants with crassulacean acid metabolism involves the flexible use of different storage carbohydrate pools[J]. *Plant Sig Behav*, **4**(3): 212-214
- Farquhar GD, Leary OMH, Berry JA. 1982. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves[J]. *Plant Physiol*, **9**: 121-137
- Farquhar GD, Wong SC. 1984. An empirical model of stomatal conductance[J]. *Austr J Plant Physiol*, **11**(3): 191-220
- Haag-Kerwer A, Franco AC, Lüttge U. 1992. The effect of temperature and light on gas exchange and acid accumulation in the C_3 -CAM plant *Clusia minor* L[J]. *J Exp Bot*, **43**: 345-352
- Herrera A. 2009. Crassulacean Acid Metabolism and fitness under (下转第 370 页 Continue on page 370)

化胁迫与抗真菌能力(Sarowar 等, 2005)。因此, APX 基因在植物耐逆性的研究中有着重要的意义。

在分子克隆的过程中, 利用 Taq 酶具有的非模板依赖性末端转移酶活性, 将 PCR 产物 3' 末端加入一个脱氧腺嘌呤核苷(A)。同时将克隆载体平端线性化后, 在其 3' 末端加入一个脱氧胸腺嘧啶核苷(T)(本研究中所用的 pTZ57R/T 载体已有商品化供应)。从而根据 T/A 碱基互补配对原理, 可以将加 A 后的 PCR 产物直接克隆入 T 载体, 这种方式称为 TA 克隆(于永利等, 1994)。本研究利用 pTZ57R/T 载体, 利用 TA 克隆的方法成功地构建了 pTZ57R/T/APX 重组质粒, 为采用 T 载体克隆其它目的基因扩增片段提供了经验; 同时, 菘蓝 APX 基因重组质粒的构建, 可为下一步深入研究其作用机制及其临床应用奠定基础。

参考文献:

Yu YL(于永利), MATH(麻彤辉), Yang GZ(杨贵贞). 1994. TA cloning and double stranded DNA sequencing; an introduction of a method for rapid cloning and analysis of PCR products (TA 克隆及双链 DNA 测序: 介绍一种快速克隆及分析 PCR 产物的方法)[J]. *Chin J Immunol* (中国免疫学杂志), **10**

(1): 5-7

- Li L(李玲), Yang GJ(杨根金), Dong TY(董同义), et al. 1996. Studies on the chemical constituents of Dyers Woad(*Isatis tinctoria*) (菘蓝化学成分研究)[J]. *Chin Trad Herbal Drugs* (中草药), **27**(7): 389-391
- AsadAK. 1992. Ascorbate peroxidase - Ahydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants[J]. *Physiol Plant*, **85**(2): 235-241
- IshikawaAT, ShigeokAS. 2008. Recent advances in ascorbate biosynthesis and the physiological significance of ascorbate peroxidase in photosynthesizing organisms[J]. *Biosci Biotech Biochem*, **72**(5): 1 143-1 154
- Mittler R, Blumwald E. 2010. Genetic engineering for modern agriculture: challenges and perspectives[J]. *Annu Rev Plant Biol*, **61**: 443-462
- Murgi AI, Tarantino D, Vannini C, et al. 2004. Arabidopsis thaliana plants overexpressing thylakoidal ascorbate peroxidase show increased resistance to paraquat-induced photooxidative stress and to nitric oxide-induced cell death[J]. *Plant J*, **38**(6): 940-953
- Sarowar S, Kim EN, Kim YJ, et al. 2005. Overexpression of a pepper ascorbate peroxidase-like 1 gene in tobacco plants enhances tolerance to oxidative stress and pathogens[J]. *Plant Sci*, **169**(1): 55-63
- Wang YJ, Wisniewski M, Meilan R, et al. 2005. Overexpression of cytosolic ascorbate peroxidase in tomato confers tolerance to chilling and salt stress[J]. *J Am Soc Hortic Sci*, **130**(2): 167-173
- Zheng WF, Chen CF, Cheng QP, et al. 2006. Oral administration of exopoly saccharide from *Aphanotheca halophytica* (Chroococcales) significantly inhibits influenza A virus (H1N1)-induced pneumonia in mice[J]. *Interna Immunopharm*, **6**(7): 1 093-1 099

(上接第 339 页 Continue from page 339)

- water deficit: If not for carbon gain, what is facultative CAM good for[J]. *Ann Bot*, **103**(4): 645-653
- Hubrick KT, Farquhar GD. 1989. Carbon isotope discrimination and the ratio of carbon gained to water lost in barley cultivars[J]. *Plant Cell Environ*, **12**(8): 795-804
- Huc R, Ferhi A, Guehl M. 1994. Pioneer and late stage tropical rain-forest tree species (French Guiana) growing under common conditions differ in leaf gas exchange regulation, carbon isotope discrimination and leaf water potential[J]. *Oecologia*, **99**(3-4): 297-305
- Johnson HB, Poly HW, Mayerux HS. 1993. Interacting CO₂ and plant-plant interactions: Effects on natural vegetation[J]. *Vegetatio*, **105**(1): 157-170
- Kluge M, Ting IP. 1978. Crassulacean acid metabolism[M]// Analysis of an ecological adaptation. Ecological studies vol 30. Berlin, Heidelberg. New York; Springer-Verlag
- Lauteri M, Brugnoli E, Spaccino L. 1993. Carbon isotope discrimination in leaf soluble sugars and in whole-plant dry matter in *Helianthus annuus* grown under different water conditions [M]// Ehleringer JR, Farquhar GD(eds). Stable Isotopes and Plant Carbon-Water Relations. San Diego; CA Academic; 93-108
- Lüttge U, Beck F. 1992. Endogenous rhythms and chaos in crassulacean acid metabolism[J]. *Planta*, **188**: 28-38
- Lüttge U. 2004. Ecophysiology of Crassulacean Acid Metabolism (CAM)[J]. *Ann Bot*, **93**(6): 629-652
- Ning YF(宁有丰), Liu WG(刘卫国), Cao YN(曹蕴宁). 2002. How does the carbon isotope composition response to the climated during the plant growing(植物生长过程中碳同位素分馏对气

候的响应)[J]. *Mar Ecol Quat Geol* (海洋地质与第四世纪地质), **22**(3): 105-108

- Osmond CB. 1978. Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context[J]. *Ann Rev Plant Physiol*, **29**: 379-414
- Schreiber U, Schliwa U, Bilger W. 1986. Continuous recording of photochemical and nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer[J]. *Photosynth Res*, **10**(2): 51-62
- Shulze ED. 1986. Whole-plant response to drought[J]. *Austr J Plant Physiol*, **13**(1): 127-141
- Urey HC. 1947. The thermodynamic properties of isotopic substances[J]. *J Chem Soc*, **152**: 562-581
- Walter A, Christ MM, Rascher U, et al. 2008. Diel growth cycles in *Clusia* spp are related to changes between C₃ photosynthesis and Crassulacean Acid Metabolism during development and during water stress[J]. *Plant Cell Environ*, **31**: 484-491
- Winter K, Holtum JAM, Edawrs GE, et al. 1982. Effects of low relative humidity on δ¹³C value in two C₃ grasses and in *Panicum milioides*, a C₃-C₄ intermediates species[J]. *J Exp Bot*, **33**(1): 88-91
- Winter K, Smith JAC. et al. 1996. Crassulacean acid metabolism [M]// Biochemistry, ecophysiology and evolution. Ecological studies vol 114. Berlin, Heidelberg. New York; Springer-Verlag
- Zhao BZ, Kondo M, Meada M, et al. 2004. Water-use efficiency and carbon isotope discrimination in two cultivars of upland rice during different developmental stages under three water regimes [J]. *Plant & Soil*, **261**(2): 61-75