

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2014.01.014

CO₂ 浓度倍增及干旱胁迫对紫花苜蓿光合生理特性的协同影响

樊良新^{1,2}, 刘国彬^{1,3}, 薛 菱^{1,3*}, 杨 婷¹, 张昌胜¹

(1. 西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 河南理工大学测绘与国土信息工程学院, 河南 焦作 454003; 3. 中国科学院水利部水土保持研究所, 陕西 杨凌 712100)

摘要:为探讨 CO₂ 浓度倍增和干旱胁迫对紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) 生理作用的协同效应, 采用人工气候室和控水试验模拟 CO₂ 浓度倍增和干旱胁迫, 分析了植物光合和抗逆生理特征的变化规律。结果表明: 干旱胁迫与 CO₂ 浓度倍增对苜蓿光响应参数影响显著, 二者之间具有一定的交互作用, 在干旱胁迫下, CO₂ 浓度倍增减缓了苜蓿叶片气孔导度 (G_s)、蒸腾速率 (T_r) 和光饱和点 (LSP) 的降低幅度, 而对最大净光合速率 (P_{max})、胞间 CO₂ 浓度 (C_i) 和表观量子效率 (AQE) 没有减缓作用。CO₂ 浓度倍增下的水分利用效率 (WUE) 高于正常 CO₂ 浓度, 而与水分含量关系不大。干旱胁迫与 CO₂ 浓度倍增对苜蓿光合色素、丙二醛 (MDA) 和脯氨酸 (Pro) 含量影响显著, 干旱胁迫在一定程度上降低了叶绿素 a (chl a)、叶绿素 b (chl b) 的含量和叶绿素总量, 显著增加了叶片 MDA 和 Pro 含量, CO₂ 浓度倍增有增加这些光合色素含量、降低 MDA 和 Pro 的趋势; 但 2 个因素之间没有显著交互作用。干旱胁迫和 CO₂ 浓度倍增对苜蓿叶绿素荧光参数影响不一, 干旱胁迫和 CO₂ 浓度倍增对叶绿素荧光参数具有较强的交互作用, CO₂ 浓度倍增对植物体光合电子传递过程中的保护作用在植物受到干旱胁迫时更加明显。因此, 在干旱、半干旱地区, 干旱胁迫对苜蓿光合生理功能产生不利的影响, 而 CO₂ 浓度倍增对苜蓿的生长具有一定的施肥效应, 当 2 个因素共同发生时, CO₂ 浓度倍增可以减缓水分胁迫对苜蓿的伤害, 增强其抗旱能力, 提高水分利用效率, 缓解干旱胁迫的负面效应。

关键词:紫花苜蓿; 光合生理特性; CO₂ 浓度倍增; 干旱胁迫; 协同效应

中图分类号: Q945.11; S541.9

文献标识码: A

文章编号: 1007-0435(2014)01-0085-09

Synergistic Effects of Doubled CO₂ Concentration and Drought Stress on the Photosynthetic Characteristics of *Medicago sativa*

FAN Liang-xin^{1,2}, LIU Guo-bin^{1,3}, XUE Sha^{1,3*}, YANG Ting¹, ZHANG Chang-sheng¹

(1. College of Natural Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi Province 712100, China; 2. School of Surveying and Land Information Engineering, Henan Polytechnic University, Jiaozuo, Henan Province 454003, China; 3. Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Science and Ministry of Water Resources, Yangling, Shaanxi Province 712100, China)

Abstract: In order to study the photo-physiological characteristics of *Medicago sativa* in the loess hilly-gully region under different water stress and CO₂ concentration, the photosynthetic and physiological characteristics of plant were analyzed with different scenarios using artificial climate chamber and water control simulation. Results showed that the photo-physiological characteristics of alfalfa were significantly affected by drought stress and doubled CO₂ concentration, and there were synergistic effects between them. Under drought stress, the doubled CO₂ concentration improved G_s , T_r and LSP , but had no effect on P_{max} , C_i and AQE , as compared with those under ambient CO₂ concentration. The water use efficiency (WUE) under double CO₂ concentration was higher than under normal CO₂ concentration, but had no significant correlation with moisture content. Drought stress and doubled CO₂ concentration had significantly effects on photosynthetic pigment, malondialdehyde (MDA) and proline (Pro). Drought stress, to a certain extent, decreased the chlorophyll a (chl a), chlorophyll b (chl b) and the total chlorophyll contents, while increased

收稿日期: 2013-05-16; 修回日期: 2013-07-15

基金项目: 西北农林科技大学基本科研业务费专项 (ZD2013021); 中国科学院战略性先导科技专项 (XDA05060300); 陕西省科学技术研究发展计划项目 (2011KJXX63) 资助

作者简介: 樊良新 (1979-), 男, 安徽六安人, 博士研究生, 主要从事生态规划管理研究, E-mail: fanliangxin@163.com; * 通信作者 Author for correspondence, E-mail: xuesha100@163.com

significantly the MDA and Pro contents of plant. Doubled CO₂ concentration decreased the photosynthetic pigment contents of plant, and improved the MDA and Pro contents of plant. However, there were no significant synergistic effects between them. Drought stress and double CO₂ concentration had different effects on the fluorescence parameters of chlorophyll, and there was a strong synergistic effect between them. Under drought stress, doubled CO₂ concentration had more obvious protection on the photosynthetic electron transport in the plants. Therefore, the above results indicated that in arid and semi-arid area, doubled CO₂ concentration had definite compensation effects on the photosynthetic physiological functions of alfalfa induced by drought stress, and enhanced drought resistance capacity, improved water use efficiency and alleviated the negative effects of drought stress on alfalfa.

Key words: *Medicago sativa*; Photo-physiological characteristics; Doubled CO₂ concentration; Drought stress; Synergic effect

随着世界人口持续增长和经济快速发展,大量消耗化石燃料排放 CO₂,大气 CO₂ 浓度以前所未有的速度在增加^[1],同时森林覆盖(尤其热带地区)大面积减少、土壤不断受到干扰等因素也进一步加快了大气中 CO₂ 浓度的迅速升高^[2-3],IPCC 认为,如不能采取严格减排措施,本世纪末大气 CO₂ 浓度将达到 730~1020 mg·L⁻¹^[4]。CO₂ 浓度升高引起全球不同区域温度变化的同时,将影响降水格局的变化,导致部分地区土壤水分有效性降低,使得一些干旱地区变得更加干燥^[5]。

同时,CO₂ 是植物光合作用的底物,其浓度的升高必将影响到植物的光合作用和生长发育过程,引发植物组织或器官的生理反应,主要表现为提高植物的净光合速率、促进光合作用和植物生长、增加产量^[6-9],并进一步影响植物群落乃至生态系统的结构和功能^[10-11]。而干旱胁迫引起的植物水分亏缺,延缓、停止或破坏植物的正常生长,加快组织器官的衰老、脱落或死亡;并通过抑制叶片伸展、影响或降低叶绿体光化学及生物化学活性等途径,使光合作用受到抑制,从而影响植物的生长发育^[12-13]。

CO₂ 升高和干旱胁迫对植物生理生态过程及生态系统的协同作用已经引起了学者的关注^[14-18],研究表明在高 CO₂ 浓度下发生土壤干旱胁迫时,CO₂ 的施肥效应受到了一定程度抑制^[19-20],而 CO₂ 浓度升高可以降低或部分缓解干旱胁迫引起的负面效应^[21-23]。然而目前该类研究多集中在作物研究中^[24-25],而对牧草方面的研究相对较少。

紫花苜蓿(*Medicago sativa*)具有很强的抗旱能力,适应性广,发展苜蓿产业不仅对畜牧业的发展具有重要意义,也是黄土高原地区目前种植的主要牧草和退耕还林还草工程的主要草种^[26]。因此,以干旱区紫花苜蓿为研究对象,通过人工气候室和控水试验模拟 CO₂ 浓度倍增和干旱胁迫的条件,探讨其在逆境下光合生理特性的响应规律,以及 CO₂ 浓

度倍增和干旱胁迫对生理作用的协同效应,为预测和揭示未来大气 CO₂ 浓度升高以及干旱、半干旱地区水分亏缺等逆境胁迫下牧草的抗逆生理和高效栽培利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

试验于 2010 年 11 月在中国科学院水土保持研究所干旱大厅进行,采用人工气候室(AGC-D003N 逆境型)控制 CO₂ 浓度、温度、湿度和光照强度等环境因子。采用自制圆桶盆栽控制试验,圆桶规格为 20 cm×15 cm(长×内径)PVC 管,底部密封,装土时桶底铺碎石,在碎石上放置一根高出桶面 2 cm 内径 2 cm 的 PVC 管作为灌水管,再铺滤纸(防止土壤渗入石缝中),每桶装相同风干黄绵土 3.5 kg。

于 2010 年 11 月 10 日播种紫花苜蓿(*M. sativa* L. 'Guanzhong')种子,当种子发芽后,每盆保留 7 株长势相近的苗,并于 11 月 25 日将盆移入人工气候室中。试验设 2 个 CO₂ 浓度处理,即正常 CO₂ 浓度(Nc:375 μmol·mol⁻¹)和倍增 CO₂ 浓度(Hc:750 μmol·mol⁻¹);2 个水分处理,即水分胁迫(Lw:40%~45%饱和田间持水量)与供水充足(Hw:80%~90%饱和田间持水量),每个处理 5 个重复。采用 2 个人工气候室,其中一个设定 CO₂ 浓度为 750 μmol·mol⁻¹,另一个为 375 μmol·mol⁻¹,用钢瓶装 CO₂ 作为外部 CO₂ 供应源,每天 24 h 不间断供应。2 个气候室均设定温度为恒温(27±1)℃、湿度为(45±3)%,光照强度为上午 7:30—11:30 为 1 组灯(280 μmol·m⁻²·s⁻¹),11:30—14:30 为 2 组灯(560 μmol·m⁻²·s⁻¹),14:30—18:00 为 1 组灯,18:00 至次日 7:30 无灯光,利用电脑系统控制所有设定参数。盆栽土壤含水量采用称重法控制,每天下午 16:00 进行水量控制,所用水为纯净水。

1.2 光合响应曲线测定和模型

2011 年 3 月 17—19 日在苜蓿生长 120 d 左右采用 Licor-6400 便携式光合仪于上午 9:30—11:30 随机选取每个处理中的 3 盆进行测定,测定时选择上部长势一致、光照相似的相同叶位处(即从顶部向下第一片完全展开叶)的 5 片叶片。用 LI-6400 自带红蓝光源(LI-6400-02B-LED)模拟光强梯度

$$P_n = \frac{aPAR + P_{\max} - \sqrt{(aPAR + P_{\max})^2 - 4\theta aPAR P_{\max}}}{2\theta} - R_d$$

式中, P 为总光合速率(photosynthetic rate, $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), θ 为光合曲线弯曲程度的凸度, P_n 为气体交换法测得的净光合速率, a (AQE)为表观量子效率(apparent quantum efficiency, $\mu\text{mol} \text{CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), P_{\max} 为最大光合速率(maximum photosynthetic rate, $\mu\text{mol} \text{CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), PAR 为光合有效辐射(photosynthetic active radiation, $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), R_d 为暗呼吸速率(dark respiration rate, $\mu\text{mol} \text{CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)。采用 Photosynthesis Work Bench 程序软件(AQ(light-response) curve for photosynthesis)测定光合曲线参数。

1.3 荧光测定

采用 Imaging-PAM(WALZ, 德国)于 2011 年 3 月 21 日测定叶绿素荧光参数。经过暗适应一个晚上后,每个处理选取健康、长势一致、光照相似的相同叶位处(即从顶部向下第一片完全展开叶)的叶片,于早上 7:00—10:00 测定,每次随机选取 5 片叶子重复测定 3 次。测定参数包括:初始荧光(F_0)、最大荧光(F_m)、实际光化学效率(Φ_{PSII})、光化学淬灭(qP)、非光化学淬灭(NPQ)、表观电子传递速率(ETR)、最大光化学效率(F_v/F_m)和潜在光化学效率(F_v/F_0),其中 $F_v = F_m - F_0$ 。3 月 24 日采集测量过以及相同部位的叶片,迅速投入液氮中带回实验室存放于 -40°C 冰箱中备测。

1.4 光合色素、丙二醛(MDA)和脯氨酸(Pro)测定

光合色素采用乙醇(浓度 95%)提取比色法测定^[27]。采用磺基水杨酸提取和酸性茚三酮染色比色法测定游离 Pro 含量;采用硫代巴比妥酸法测定 MDA 含量^[28]。

1.5 数据分析

试验数据均采用 Excel 2003 和 SPSS 12.0 软件进行分析,采用 DUNCAN 法比较数据间的差异性。

2000,1800,1600,1400,1200,1000,800,600,400,300,250,200,160,120,80,40,0 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 共 17 个,设定改变光照强度后,最小稳定时间为 60 s,重复测定 3 次。

采用非直角双曲线模型对曲线进行拟合,其表达式为: $\theta P - P(aPAR + P_{\max})aPARP_{\max} = 0$,当 $\theta \neq 0$ 时,由 $P_n = P - R_d$,非直角双曲线方程变为:

2 结果与分析

2.1 光响应曲线模型及参数

采用非直角双曲线模型对紫花苜蓿光合响应曲线进行拟合(图 1,表 1),每个处理的拟合决策系数均大于 0.998,拟合值与实测值基本一致,说明该曲线模型能够较好地反映紫花苜蓿的实际光合响应过程。因此,将以该模型的拟合结果来阐述紫花苜蓿在不同水分及 CO₂ 浓度下的光合响应特征。

不论正常还是倍增 CO₂ 浓度,干旱胁迫都降低了苜蓿的最大净光合速率(P_{\max})和暗呼吸速率(R_d),而对光补偿点(LCP)没有显著影响;在正常 CO₂ 浓度下,干旱胁迫降低了表观量子效率(AQE)和光饱和点(LSP),而在倍增 CO₂ 浓度下,表观量子效率(AQE)没有显著差异,光饱和点(LSP)则明显提高(表 1)。CO₂ 浓度升高对苜蓿光合作用的影响因水分不同而异,在干旱胁迫下,CO₂ 浓度倍增对苜蓿光响应参数无显著影响;在水分充足条件下,CO₂ 浓度倍增显著增大了 P_{\max} 和 LSP,而降低了 AQE, R_d 和 LCP(表 1)。

干旱胁迫和 CO₂ 浓度倍增对气孔导度(G_s)和蒸腾速率(T_r)影响显著(图 2 和 3),2 个指标的变化规律相似, $\text{HwNc} > \text{HwHc} > \text{LwNc} > \text{LwHc}$,表明干旱胁迫和 CO₂ 浓度倍增均降低了紫花苜蓿叶片的 G_s 和 T_r 。而胞间 CO₂ 浓度(C_i)在 HwHc 处理下最高,其他 3 种处理下差异较小,说明干旱胁迫降低了 CO₂ 浓度倍增对 C_i 的增加作用。

2.2 水分利用效率(WUE)的变化

不同处理下的水分利用效率(WUE)变化趋势如图 4 所示,4 个处理在光照强度小于 200~250 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时快速增大,随后除 HwNc 外均趋于稳定,HwNc 在光照强度为 250 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时最高,此后迅速下降,达 400 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 后趋于

平稳。总体上 CO_2 浓度倍增下的 WUE 高于正常 CO_2 浓度,而与水分含量关系不大。表明 CO_2 浓度倍增在一定程度上提高了紫花苜蓿叶片的 WUE ,

促进了光合作用;但正常 CO_2 浓度条件下,在光照强度为 $160\sim 600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 范围内 WUE 表现为水分充足处理大于干旱胁迫处理。

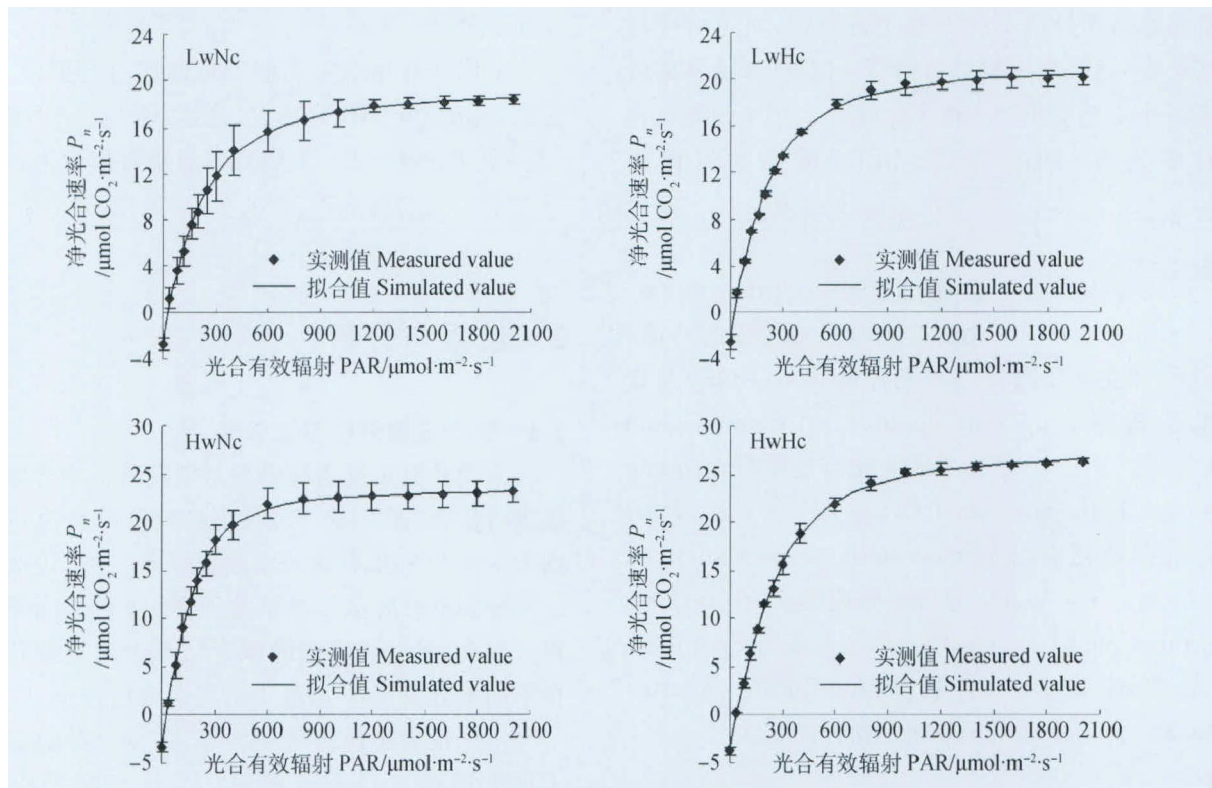


图1 不同处理下紫花苜蓿光响应曲线拟合及变化特征

Fig. 1 The photosynthetic characteristics and light response curves of *M. sativa* leaves under different treatments.

注:Lw-干旱胁迫,Hw-水分充足,Nc-正常 CO_2 浓度,Hc- CO_2 浓度倍增。下同

Note: Lw- Drought stress, Hw- Adequate moisture content, Nc- Normal CO_2 concentration, Hc- Doubled CO_2 concentration.

The same as below

表1 不同水分和 CO_2 浓度处理下紫花苜蓿的光响应曲线参数

Table 1 The parameters of light response curves of *M. sativa* under different water and CO_2 concentration treatments

	干旱胁迫 Drought stress		水分充足 Adequate moisture content	
	正常 CO_2 浓度 Normal CO_2 concentration	CO_2 浓度倍增 Doubled CO_2 concentration	正常 CO_2 浓度 Normal CO_2 concentration	CO_2 浓度倍增 Doubled CO_2 concentration
最大净光合速率 $P_{\max}/\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	22.55 ± 1.34^c	23.95 ± 0.57^c	27.05 ± 1.06^b	31.65 ± 0.47^a
表观量子效率 $AQE/\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	0.09 ± 0.01^b	0.09 ± 0.01^b	0.11 ± 0.01^a	0.09 ± 0.00^b
暗呼吸速率 $R_d/\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	2.36 ± 0.53^c	2.21 ± 0.69^{bc}	3.23 ± 0.33^{ab}	3.34 ± 0.29^a
光饱和点 $LSP/\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	900~1000	900~1000	850~950	1100~1200
光补偿点 $LCP/\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	31.26 ± 14.43^a	23.79 ± 7.58^a	27.48 ± 7.97^a	40.79 ± 4.64^a
模型方程决策系数 R^2	0.9986	0.9984	0.9990	0.9993

注:同一行中不同字母代表不同处理间差异显著($P < 0.05$),下同

Note: Different letters in the same line represent statistic significance at 0.05 levels between different treatments. The same as below

2.3 叶绿素荧光及光合色素变化特征

CO_2 浓度倍增有增加叶绿素 a(chl a)、叶绿素 b(chl b)和叶绿素总量的趋势,而干旱胁迫则在一定程度上降低了这些光合色素含量(图5)。水分

及 CO_2 浓度的变化对类胡萝卜素含量则无显著影响。

干旱胁迫和 CO_2 浓度倍增对紫花苜蓿的叶绿素荧光参数影响显著(表2)。干旱胁迫显著提高了

初始荧光(F_0)和非光化学淬灭(NPQ)($P < 0.05$),同时显著降低了最大光化学效率(F_v/F_m)、潜在光化学效率(F_v/F_0)、实际光化学效率(Φ_{PSII})、光化学淬灭(qP)和表观光合电子传递速率(ETR)($P < 0.05$)。CO₂ 浓度对叶绿素荧光参数的影响则因水分不同而不同,在水分充足条件下,CO₂ 浓度倍增处理显著降低了初始荧光(F_0)($P < 0.05$),而最大光化学效率、潜在光化学效率则显著提高($P < 0.05$),对最大荧光(F_m)、实际光化学效率、荧光淬灭和表观光合电子传递速率均无显著影响;干旱胁迫下 CO₂ 浓度倍增处理除显著增加了光化学淬灭及非光化学淬灭外($P < 0.05$),对其他荧光参数均无显著影响。

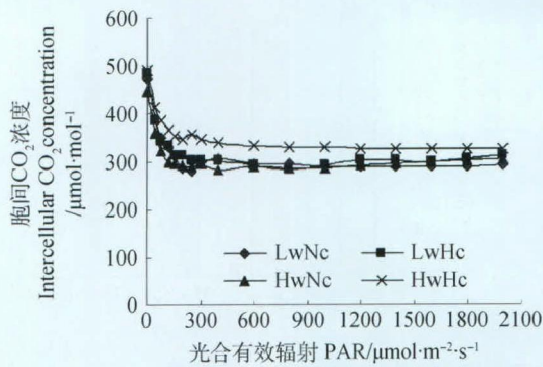


图 3 不同水分及 CO₂ 浓度处理下紫花苜蓿胞间 CO₂ 浓度(C_i)及蒸腾速率(T_r)的变化特征
Fig. 3 The change characteristics of C_i , T_r to the PAR of *M. sativa* leaves under different water and CO₂ concentration treatments

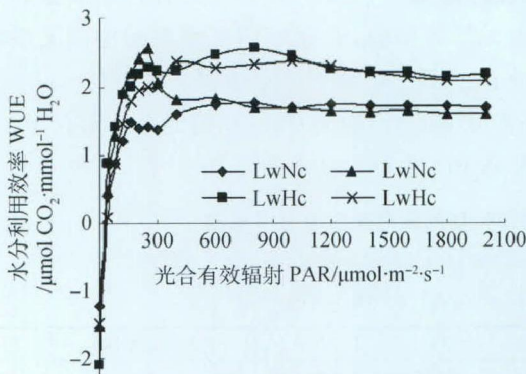


图 4 不同水分及 CO₂ 浓度处理下紫花苜蓿水分利用效率(WUE)的变化特征

Fig. 4 The change characteristics of WUE to the PAR of *M. sativa* leaves under different water and CO₂ concentration treatments

2.4 丙二醛及脯氨酸含量变化特征

干旱胁迫显著增加了叶片丙二醛(MDA)和脯氨酸(Pro)含量($P < 0.05$)。CO₂ 浓度升高可以降低 MDA 和 Pro 含量,但仅干旱胁迫下 CO₂ 浓度倍

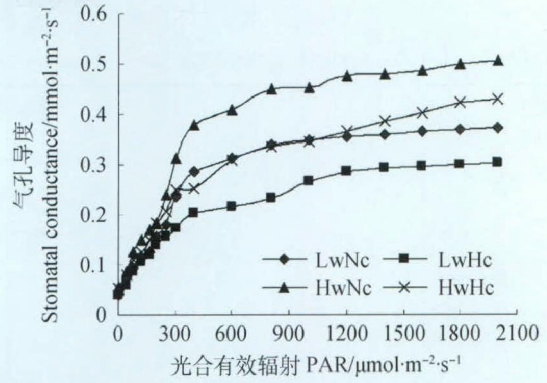
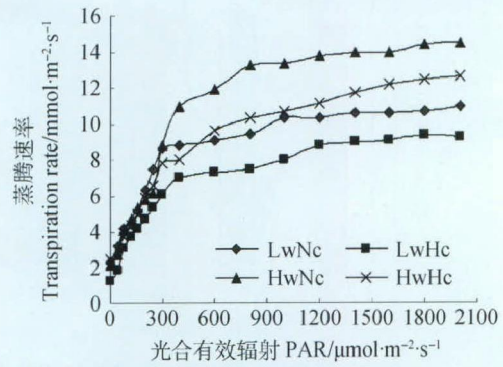


图 2 不同水分及 CO₂ 浓度处理下紫花苜蓿气孔导度(G_s)的变化特征

Fig. 2 The change characteristics of G_s to the PAR of *M. sativa* leaves under different water and CO₂ concentration treatments



增对 Pro 的降低作用达到显著水平($P < 0.05$),其余处理降幅均未达显著水平(图 6)。

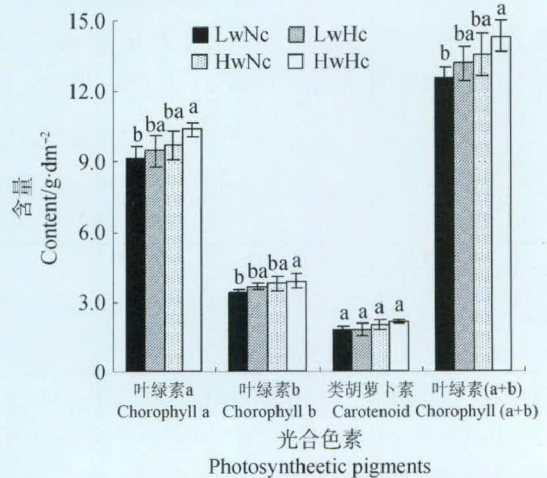


图 5 不同水分及 CO₂ 浓度下紫花苜蓿叶片叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素和叶绿素总含量
Fig. 5 The chl a, chl b, carotenoid and chorophyll contents of *M. sativa* leaves under different water and CO₂ concentrations

表 2 不同水分和 CO₂ 浓度处理下苜蓿叶片的叶绿素荧光参数

Table 2 The chlorophyll fluorescence kinetics parameters of *M. sativa* under different water and CO₂ concentration treatments

	干旱胁迫 Drought stress		水分充足 Adequate moisture content	
	正常 CO ₂ 浓度	CO ₂ 浓度倍增	正常 CO ₂ 浓度	CO ₂ 浓度倍增
	Normal CO ₂	Doubled CO ₂	Normal CO ₂	Doubled CO ₂
	concentration	concentration	concentration	concentration
最大荧光 F_m	0.459±0.021 ^a	0.441±0.011 ^a	0.449±0.020 ^a	0.446±0.024 ^a
初始荧光 F_0	0.135±0.010 ^a	0.126±0.006 ^a	0.110±0.003 ^b	0.093±0.005 ^c
最大光化学效率 F_v/F_m	0.705±0.013 ^c	0.714±0.008 ^c	0.756±0.007 ^b	0.791±0.003 ^a
潜在光化学效率 F_v/F_0	2.397±0.154 ^c	2.501±0.102 ^c	3.101±0.115 ^b	3.783±0.055 ^a
实际光化学效率 Φ_{PSII}	0.353±0.007 ^b	0.376±0.012 ^b	0.560±0.005 ^a	0.587±0.033 ^a
光化学淬灭 qP	0.738±0.051 ^b	0.854±0.008 ^a	0.868±0.008 ^a	0.846±0.055 ^a
非光化学淬灭 NPQ	0.401±0.056 ^b	0.544±0.026 ^a	0.176±0.018 ^c	0.166±0.009 ^c
表观光合电子传递效率 ETR	30.27±0.600 ^b	32.23±0.960 ^b	48.03±0.380 ^a	50.27±2.810 ^a

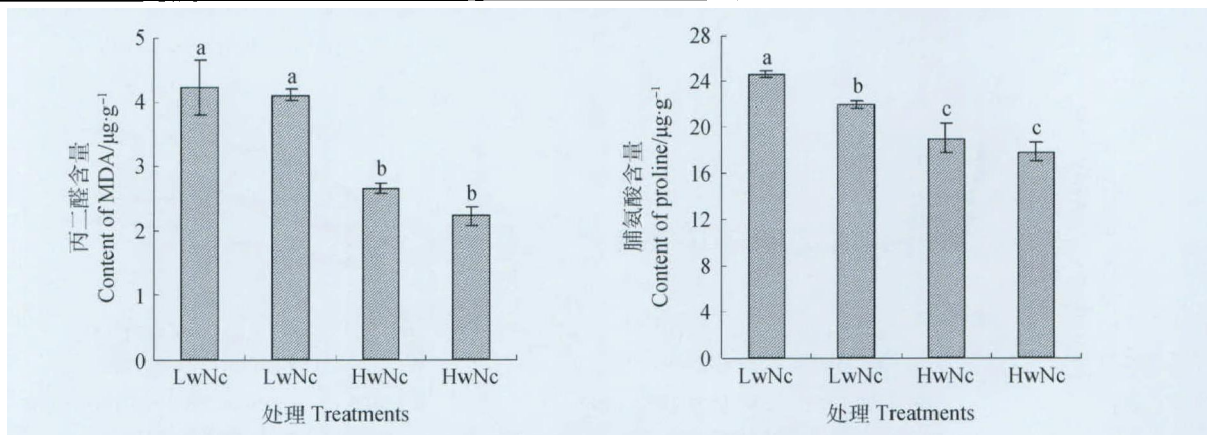


图 6 不同水分及 CO₂ 浓度处理下紫花苜蓿丙二醛(MDA)及脯氨酸(Pro)的变化特征

Fig. 6 MDA and Pro contents of

M. sativa under different water and CO₂ concentration treatments

2.5 干旱胁迫和 CO₂ 浓度倍增的双因素方差分析

双因素方差分析表明(表 3),干旱胁迫对 P_{nmax} , 光合色素含量, F_v/F_m , F_v/F_0 , MDA 和 Pro 含量的影响差异均达显著 ($P < 0.05$) 或者极显著水平 ($P < 0.01$); CO₂ 浓度对 P_{nmax} , F_v/F_m , F_v/F_0 和 Pro 含量

有极显著影响 ($P < 0.01$), 但对光合色素含量, F_m 和 MDA 无显著影响; 水分与 CO₂ 浓度的协同关系表现为: 对 P_{nmax} , F_v/F_0 和 F_v/F_0 含量有显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$) 的交互作用, 对光合色素含量, F_m , MDA 和 Pro 含量无显著的交互作用。

表 3 水分和 CO₂ 浓度处理对紫花苜蓿光合生理特征的双因素方差分析结果

Table 3 Univariate analysis for the effect of water and carbon dioxide concentration on the photosynthetic characteristics of *M. sativa*

处理	P_{nmax}	光合色素 Photosynthetic pigments	F_m	F_v/F_m	F_v/F_0	MDA	Pro
水分 Water	**	*	--	**	**	**	**
CO ₂	**	--	--	**	**	--	**
水分×CO ₂ Water×Carbon dioxide	*	--	--	*	**	--	--

注: * 代表显著相关 ($P < 0.05$), ** 代表极显著相关 ($P < 0.01$)

Note: * represent significant correlation at the 0.05 level; ** represent significant correlation at the 0.01 level

3 讨论

3.1 光响应与水分利用效率

干旱胁迫会引起植物水分亏缺, 延缓、破坏或终止植物的正常生长, 并加快组织器官和个体的衰老

与脱落, 进一步通过抑制叶片伸展、影响或降低叶绿体光化学及生物化学活性等途径, 使光合作用受到抑制。大量研究表明水分胁迫通过气孔和非气孔因素影响植物的光合作用, 而不论是通过气孔因子还是非气孔因子起作用, 水分胁迫的后果都是使碳同

化速率降低,导致光能过剩和光合作用光抑制,甚至造成不同程度的光氧化与光破坏,最终演变成非气孔因子起主导作用^[29]。本研究结果表明,干旱胁迫降低了气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)、最大净光合速率(P_{max})和暗呼吸速率(R_d),而对光补偿点(LCP)没有显著影响。CO₂浓度升高,可以通过降低气孔导度、蒸腾速率改变植物光合系统结构,提高光系统活性和水分利用效率,使得光合速率提高^[30-31],实现CO₂“施肥”效应。本研究也证明CO₂浓度倍增具有“施肥效应”,表现为显著增大了 P_{max} 和LSP,降低了AQE, R_d 和LCP。

针对CO₂浓度倍增与其他因子对光合作用的协同作用已有不少研究,但是结果差异较大。李伏生等^[32]发现在不同土壤氮和水分条件下,CO₂浓度升高促进了小麦(*Triticum aestivum*)的光合作用,气孔导度和蒸腾速率降低,提高水分利用效率,在干旱胁迫条件下比水分充足条件下幅度更大,即干旱胁迫下CO₂浓度升高带来的有益效应更明显。然而也有研究表明,植物在高CO₂浓度下土壤发生干旱胁迫时,CO₂对植物的促进作用受到一定程度的抑制。如Parry等^[20]指出,温度的增加和土壤水分的降低将导致作物减产,抵消了由CO₂浓度升高引起的“施肥”效应。因此,CO₂浓度升高对植物和生态系统的影响并非独立的,而是与温度、水分、养分等环境因子共同作用的结果^[33]。本研究中在正常水分条件下,CO₂浓度倍增降低了紫花苜蓿叶片的 G_s 和 T_r ,提高了 P_{max} 和 C_i ,在干旱胁迫下,CO₂浓度倍增减缓了紫花苜蓿叶片的 G_s 和 T_r 的降低幅度,而对 P_{max} 和 C_i 没有减缓作用。这和李清明等^[21]的研究结果相似,他们认为在没有干旱胁迫下CO₂浓度倍增后 G_s 将不是净光合速率提高的限制因子(非气孔限制), C_i 的提高增加了Rubisco的底物,促进了Rubisco催化反应向羧化作用进行。而在干旱胁迫下,CO₂浓度倍增补偿了 G_s 降低所引起的CO₂浓度的减少,从而减缓了由于干旱导致的 C_i 的降低,也就是说Rubisco的底物并未降低,而是缓解了干旱对净光合速率的降低作用。

本研究结果同时表明CO₂浓度倍增下的WUE高于正常CO₂浓度,与水分含量关系不大,这主要是由于在CO₂浓度倍增下苜蓿叶片的 G_s 和 T_r 降低,导致蒸腾失水减少,而 P_{max} 和 C_i 显著提高,WUE增加;另一方面,虽然干旱胁迫降低了 G_s , T_r 和 P_{max} ,但是WUE却并没有因为是否有胁迫而导致降低,表明CO₂浓度倍增可显著降低干旱胁迫对

WUE的降低作用。本研究的双因素方差分析结果也证明了干旱胁迫和CO₂浓度倍增存在显著的交互作用,CO₂浓度倍增减缓了干旱对苜蓿光合作用的胁迫作用。Yu等^[15]研究认为CO₂浓度升高可以通过提高 G_s 和代谢活性来缓解干旱对光合能力的负面作用,另外他们认为CO₂浓度升高可以降低干旱导致的 P_{max} 降低,并通过维持一个较高的植物相对含水量和低的渗透压来调整和降低土壤和植物水分的丧失,进一步提高WUE,从而实现CO₂浓度升高缓解干旱胁迫的作用。该结论和本研究结论相似,也被许多研究结果证实^[34-35]。

3.2 叶绿素荧光及光合色素

叶绿素荧光是用来探测植物光合生理与逆境胁迫关系的理想技术, F_v/F_m 在非环境胁迫条件下极少变化,不受生长条件和物种的影响,但叶片受光抑制和胁迫时则明显下降,可作为光抑制和胁迫程度的良好指标和探针。 F_v/F_m 和 F_v/F_o 的大小反映了PSII光化学活性的强弱^[36],干旱胁迫使苜蓿的 F_v/F_m 和 F_v/F_o 显著降低, F_m 则没有显著变化,表明光化学活性降低,PSII反应中心受到不同程度的破坏^[37];在没有干旱胁迫下,CO₂浓度倍增可以显著增加 F_v/F_m 和 F_v/F_o ,增强了PSII光化学活性,促进叶绿素合成,抑制叶绿素分解,光合色素含量增加,光合作用增强;在存在干旱胁迫时,CO₂浓度倍增可以减缓 F_v/F_m 和 F_v/F_o 的降低作用,但是这种降低作用并不显著,表明CO₂浓度倍增可以增强对PSII反应中心的保护作用,提高PSII光化学活性,但是水分是制约该作用发挥的一个重要因子。双因素分析结果表明干旱胁迫和CO₂浓度倍增对 F_v/F_m 和 F_v/F_o 存在着显著的交互作用,而对 F_m 没有交互作用,这与前人研究结果^[38-39]相似,他们认为干旱胁迫下CO₂浓度升高会导致 F_v/F_m 显著升高,从而提高PSII光化学效率。另一方面,干旱胁迫显著降低了 Φ_{PSII} ,CO₂浓度倍增虽然有增加 Φ_{PSII} 的趋势,但其作用远远低于干旱胁迫的作用。

荧光淬灭是植物光合量子效率调节的一个重要方面,它包括光化学淬灭系数(qP)和非光化学淬灭系数(NPQ)2类。光化学淬灭在一定程度上反映了PSII反应中心的开放程度,其大小与PSII的电子传递活性有关, qP 愈大,则PSII的电子传递活性愈大^[40]。非光化学淬灭反映了PSII天线色素吸收的光能不能用于光合电子传递而以热的形式耗散掉的部分,如果吸收的过量光能,不能及时耗散将破坏光

合机构或造成其失活,因此 NPQ 对光合机构具有保护作用^[41]。本研究中干旱胁迫后 qP 显著降低, NPQ 显著升高,表明干旱胁迫降低了 PS II 的电子传递活性,而叶片的非辐射能量耗散显著增加,光化学猝灭能力减弱;CO₂ 浓度倍增对 qP 和 NPQ 则没有显著影响,说明没有干旱胁迫时 CO₂ 浓度倍增对 PS II 电子传递的影响不大;而在干旱胁迫时, qP 和 NPQ 则显著增大,表明 CO₂ 浓度倍增在植物体受到胁迫后会提高 PS II 反应中心的开放比例,PS II 的电子传递速率增加,加快过多光能的耗散,增强了光合机构的保护,说明当在干旱这种逆境胁迫下 CO₂ 浓度倍增对植物体的保护作用才会表现出来,即 CO₂ 浓度倍增对植物体光合电子传递过程中的保护作用只有在植物受到逆境胁迫时才会启动。

3.3 丙二醛及脯氨酸含量

MDA 是反映干旱胁迫对植物伤害的重要参数,当植物细胞遭受逆境胁迫如干旱时,细胞膜发生氧化分解,MDA 大量积累,其含量越高表明植物抗旱能力越差^[42]。研究结果证明干旱胁迫导致紫花苜蓿叶片 MDA 含量显著增大;而 CO₂ 浓度倍增虽有减少 MDA 含量的趋势,但效果不显著;双因素分析表明仅水分因素对 MDA 有显著影响,CO₂ 浓度倍增及其与水分的作用均不显著。Pro 具有增强细胞持水、调节渗透压、稳定大分子结构等功能,是植物在干旱胁迫下的有效渗透物质^[43]。虽然植物受到干旱胁迫时,植物体内的 Pro 含量会增加,但目前能否用 Pro 作为一个抗旱指标来反映干旱胁迫仍然存在较大争议^[44-46]。本研究发现,干旱胁迫显著增加了苜蓿叶片的 Pro 含量,CO₂ 浓度倍增仅在干旱胁迫下才显著降低 Pro 含量,说明在干旱胁迫下 CO₂ 浓度倍增的作用更加明显,双因素分析表明干旱胁迫和 CO₂ 浓度倍增均对 Pro 含量有显著影响,但 2 种因素之间没有交互作用,这证明 Pro 可作为反映苜蓿干旱胁迫损伤程度或抗旱指标之一。

4 结论

干旱胁迫与 CO₂ 浓度倍增对苜蓿光响应参数、水分利用效率和叶绿素荧光及光合色素特征影响明显。干旱胁迫会导致苜蓿光合生理作用和光合色素含量的降低,光化学效率减缓,丙二醛和脯氨酸含量升高;CO₂ 浓度倍增显著增强了光合生理作用,提高光化学效率,增加光合色素含量,降低丙二醛和脯

氨酸含量。干旱胁迫和 CO₂ 浓度倍增具有较强的交互作用,CO₂ 浓度倍增减缓了干旱胁迫对紫花苜蓿叶片光合生理特性和光合效率的降低作用,提高水分利用效率,降低脯氨酸含量,增强干旱胁迫时植物体光合电子传递过程的保护作用。

参考文献

- [1] Smith T M, Karl T R, Reynolds R W. Climate modeling. How accurate are climate simulations? [J]. *Science*, 2002, 296 (5567): 483-484
- [2] DeLucia E H, Hamilton J G, Naidu S L. Net primary production of a forest ecosystem with experimental CO₂ enrichment [J]. *Science*, 1999, 284(5417): 1177-1179
- [3] Philips O L, Halhi Y, Higuchi N. Changes in carbon balance of tropical forests: Evidence from long-term plots [J]. *Science*, 1998, 282(5388): 439-442
- [4] IPCC. Climate Change 2001: Synthesis report; The third assessment report of the intergovernmental panel on climate change [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2001: 35-38
- [5] 尚宗波,高琼. 中国水分状况对全球气候变化的敏感性分析 [J]. *生态学报*, 2001, 21(4): 528-537
- [6] King J S, Thomas R B, Strain B R. Growth and carbon accumulation in root systems of *Pinus taeda* and *Pinus ponderosa* seedlings as affected by varying CO₂ temperature, and nitrogen [J]. *Tree Physiology*, 1996, 16(7): 635-642
- [7] Murray M B, Smith R I, Friend A, et al. Effect of elevated [CO₂] and varying nutrient application rates on physiology and biomass accumulation of Sitka spruce (*Picea sitchensis*) [J]. *Tree Physiology*, 2000, 20(7): 421-434
- [8] 王精明,李永华,黄胜琴,等. CO₂ 浓度升高对红掌光合速率与生长发育的影响 [J]. *园艺学报*, 2005, 32(2): 335-338
- [9] 孙加伟,赵天宏,付宇,等. CO₂ 浓度升高对玉米叶片光合生理特征的影响 [J]. *玉米科学*, 2009, 17(2): 81-85
- [10] Vasseur P C. Long-term CO₂ enrichment of a pasture community: Species richness, dominance, and succession [J]. *Ecology*, 1997, 78(13): 666-677
- [11] Joel G, ChaPin F S, Chiariello N R, et al. Species specific responses of plant communities to altered carbon and nutrient availability [J]. *Global Change Biology*, 2001, 7(4): 435-450
- [12] Rodiyati A, Arisoelaningsih E, Isagi Y, et al. Responses of *Cyperus brevifolius* (Rottb.) Hassk. and *Cyperus kyllingia* Endl. to varying soil water availability [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2005, 53(3): 259-269
- [13] 尹丽,胡庭兴,刘永安,等. 干旱胁迫对不同施氮水平麻疯树幼苗光合特性及生长的影响 [J]. *应用生态学报*, 2010, 21(3): 569-576
- [14] 王美玉,赵天宏,张巍巍,等. CO₂ 浓度升高与温度、干旱相互作用对植物生理生态过程的影响 [J]. *干旱地区农业研究*, 2007, 25(2): 99-103
- [15] Yu J J, Chen L H, Xu M, et al. Effects of elevated CO₂ on

- physiological responses of tall fescue to elevated temperature, drought stress, and the combined stresses [J]. *Crop Science*, 2012, 52(4):1848-1858
- [16] Markelz R J, Strellner R S, Leakey A. Impairment of C₄ photosynthesis by drought is exacerbated by limiting nitrogen and ameliorated by elevated CO₂ in maize [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(9):3235-3246
- [17] Vu J C V, Allen L H. Growth at elevated CO₂ delays the adverse effects of drought stress on leaf photosynthesis of the C₄ sugarcane [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2009, 166(2):107-116
- [18] Wall G W, Garcias R L, Wechsung F, et al. Elevated atmospheric CO₂ and drought effects on leaf gas exchange properties of barley [J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2011, 144(1):390-404
- [19] 高素华, 郭建平, 周广胜. 高 CO₂ 浓度下羊草对土壤干旱胁迫的响应[J]. *中国生态农业学报*, 2002, 10(4):31-33
- [20] Parry M, Rosenzweig C, Iglesias A, et al. Effects of climate change on global food production under SRES emissions and socio-economic scenarios [J]. *Global Environmental Change*, 2004, 14(1):53-67
- [21] 李清明, 刘彬彬, 邹志荣. CO₂ 浓度倍增对干旱胁迫下黄瓜幼苗光合特性的影响[J]. *中国农业科学*, 2011, 44(5):963-971
- [22] 李清明, 刘彬彬, 艾希珍. CO₂ 浓度倍增对干旱胁迫下黄瓜幼苗膜脂过氧化及抗氧化系统的影响[J]. *生态学报*, 2010, 30(22):6063-6071
- [23] Wullschlegel S D, Tschaplinski T J, Norby R J. Plant water relations at elevated CO₂ implications for water limited environments [J]. *Plant, Cell and Environment*, 2002, 25(2):319-331
- [24] Leakey A D B, Uribelarrea M, Ainsworth E A, et al. Photosynthesis, productivity and yield of maize are not affected by open air elevation of CO₂ concentration in the absence of drought [J]. *Plant Physiology*, 2006, 140(2):779-790
- [25] Wechsung G, Wechsung F, Wall G W, et al. The effects of free air CO₂ enrichment and soil water availability on spatial and seasonal patterns of wheat root growth [J]. *Global Change Biology*, 1999, 5(5):519-529
- [26] 王俊, 刘文兆, 钟良平, 等. 长期连续种植苜蓿草地地上部分生物量与土壤水分的空间差异性[J]. *草业学报*, 2009, 18(4):41-46
- [27] Sartory D R, Grobbelaar J U. Extraction of chlorophyll a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis [J]. *Hydrobiologia*, 1984, 114(3):177-187
- [28] 张志安, 张美善, 尉茱海. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业技术出版社, 2002:4-7
- [29] 邹琦, 孟庆伟, 高辉远, 等. 作物在非生物逆境下的光合作用[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2004:116-172
- [30] 孙谷畴, 赵平, 曾小平, 等. 倍增 CO₂ 分压对水稻和苜蓿草冠层光合潜力的影响[J]. *生态学杂志*, 2003, 22(4):1-5
- [31] 何平. 温室效应与植物光合作用: CO₂ 浓度升高对植物光合机理影响的分析[J]. *中南林学院学报*, 2001, 21(1):1-4
- [32] 李伏生, 康绍忠, 张富仓. CO₂ 浓度、氮和水分对春小麦光合、蒸散及水分利用效率的影响[J]. *应用生态学报*, 2003, 14(3):387-393
- [33] 白莉萍, 周广胜. 全球环境变化对农作物影响的研究进展[J]. *应用与环境生物学报*, 2004, 10(3):394-397
- [34] Qaderi M M, Kurepin L V, Reid D M. Growth and physiological responses of canola (*Brassica napus*) to three components of global climate change: Temperature, carbon dioxide and drought [J]. *Physiologia Plantarum*, 2006, 128(4):710-721
- [35] Robredo A, Pérez-López U, Maza H S, et al. Elevated CO₂ alleviates the impact of drought on barley improving water status by lowering stomatal conductance and delaying its effects on photosynthesis [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2007, 59(3):252-263
- [36] Lichtenthaler H K. Application of chlorophyll fluorescence in research tree physiology, hydrobiology and remote sensing [M]. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 1991:253-258
- [37] 王建程, 严昌荣, 卜玉山. 不同水分与养分水平对玉米叶绿素荧光特性的影响[J]. *中国农业气象*, 2005, 26(12):95-98
- [38] Hamerlynck E P, Huxman T E, Loik M E, et al. Effects of extreme high temperature, drought and elevated CO₂ on photosynthesis of the Mojave Desert evergreen shrub, *Larrea tridentate* [J]. *Plant Ecology*, 2000, 148(4):183-193
- [39] Aranjuelo I, Perez P, Hernandez L, et al. The response of nodulated alfalfa to water supply, temperature and elevated CO₂: Photosynthetic down regulation [J]. *Physiologia Plantarum*, 2005, 123(3):348-358
- [40] 王可珍, 许春辉, 赵福洪, 等. 水分胁迫对小麦旗叶某些体内叶绿素 a 荧光参数的影响[J]. *生物物理学报*, 1997, 13(2):273-278
- [41] 赵丽英, 邓西平, 山仑. 不同水分处理下冬小麦旗叶叶绿素荧光参数的变化研究[J]. *中国生态农业学报*, 2007, 15(1):63-66
- [42] 严美玲, 李向东, 林英杰, 等. 苗期干旱胁迫对不同抗旱花生品种生理特征、产量和品质的影响[J]. *作物学报*, 2007, 33(1):113-119
- [43] Liang J, Zhang J, Wong M H. Stomatal conductance in relation to xylem sap ABA concentration in two tropical trees, *Acacia confusa* and *Litsea glutinosa* [J]. *Plant, Cell and Environment*, 1996, 19(1):93-100
- [44] Hanson A D, Neison C F, Pedersen A R, et al. Capacity for proline accumulation during water stress in barley and its implication for breeding for drought resistance [J]. *Crop Science*, 1979, 19(2):489-493
- [45] Singh T N, Aspnall D, Paleg L G. Proline accumulation and varietal adaptability to drought in barley, a potential metabolic measure of drought resistance [J]. *Nature New Biology*, 1972, 236(67):188-190
- [46] 刘娥娥, 宗会, 郭振飞, 等. 干旱、盐和低温胁迫对水稻幼苗脯氨酸含量的影响[J]. *热带亚热带植物学报*, 2000, 8(3):235-238

(责任编辑 刘云霞)