

高桂青, 吕顺华, 卢 龙, 等. 黑藻叶片 PS II 叶绿素荧光参数对 Cd、Zn 单一及复合胁迫的光响应[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(23): 375–378. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.23.092

黑藻叶片 PS II 叶绿素荧光参数对 Cd、Zn 单一及复合胁迫的光响应

高桂青^{1,2}, 吕顺华², 卢 龙¹, 李 威², 计 勇², 游济康²

(1. 南昌大学资源环境与化工学院, 江西南昌 330031; 2. 南昌工程学院土木与建筑工程学院, 江西南昌 330099)

摘要:以黑藻为试验材料, 利用水下饱和脉冲调制叶绿素荧光仪(DIVING-PAM), 研究 Cd、Zn 单一及复合胁迫下叶绿素荧光参数的变化及光响应曲线。结果表明, 随着处理浓度的增加, 3 种胁迫均导致最小荧光(F_0)、最大荧光(F_m)、最大光化学效率(F_v/F_m)、潜在光化学效率(F_v/F_0)、有效量子产量(Y_{II})和光化学荧光淬灭系数(q_P)显著降低($P < 0.05$)。光响应结果显示, Cd、Zn 复合胁迫下, 低浓度($Cd^{2+} \leq 2 \text{ mg/L}$, $Zn^{2+} \leq 5 \text{ mg/L}$)对调节性能量耗散的量子产额(Y_{NPQ})表现为协同作用, 较高浓度($Cd^{2+} > 2 \text{ mg/L}$, $Zn^{2+} > 5 \text{ mg/L}$)表现为拮抗作用。非调节性能量耗散的量子产额(Y_{NO})随着处理浓度增加而增加。电子传递速率(ETR)达到最大饱和后, 随着有效辐射强度(PAR)的增强呈现平缓下降的趋势。受到不同浓度重金属毒害时, 黑藻叶片通过调节 PS II 反应中心开放程度与活性, 实现光保护能力, 对 Zn 胁迫表现出较强的耐性, Cd 胁迫次之, Cd + Zn 复合胁迫最小。

关键词: 重金属胁迫; 黑藻; PS II 反应中心; 叶绿素荧光; 协同作用; 拮抗作用; 光响应

中图分类号: X52; X173 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)23-0375-04

重金属作为不可降解的污染物, 对生物的危害日益受到全社会的关注^[1]。镉(Cd)是植物非必需和毒性最强的重金属元素之一, 镉胁迫可诱发 PS II 捕光复合体改变, 从而抑制 PS II 的捕光色素吸收光能、能量传递和能态激发效率^[2]; 另外, Cd 胁迫可通过降低植物叶片叶绿素含量^[3]、降低 PS II 的活性、抑制环式和非环式光合磷酸化^[4]等途径, 抑制植物对光能的吸收与电子传递、CO₂ 固定等光合作用各过程。锌(Zn)参与植物体光合作用、蛋白质与核酸代谢, 过量的锌又会对植物细胞结构造成毒害^[5]。由于重金属元素之间的加和、协同、拮抗等作用使水体重金属污染的评价和监测更加复杂, 如何正确评价重金属元素之间的联合作用对水环境治理具有重要的意义^[6]。

黑藻是我国湖泊中广泛存在的沉水植物, 对重金属具有较强的吸收积累能力^[7]。目前, 国内外重金属胁迫黑藻的研究主要集中在重金属生理生化的伤害反应^[8-9]、细胞内部亚显微结构变化^[10]等方面, 而采用叶绿素荧光动力学技术研究镉和锌复合污染对黑藻胁迫机制的影响甚少。叶绿素荧光参数在探测逆境对光合作用的影响等方面具有快速、简便、灵敏、可靠等特性, 能够反映光合系统“内在性”特点^[11], 被看作研究植物光合作用与环境胁迫程度关系的有效探针^[12]。

本试验以黑藻为研究对象, 分析了 Cd、Zn 单一及复合胁迫下黑藻叶片 PS II 的最小荧光(F_0)、最大荧光(F_m)、最大光化学效率(F_v/F_m)、潜在光化学效率(F_v/F_0)、有效量子产量(Y_{II})、调节性能量耗散的量子产量(Y_{NPQ})、非调节性能量耗散的量子产量(Y_{NO})、光化学荧光淬灭系数(q_P)、非光化学淬灭系数(q_N)等参数的变化, 结合前人研究探讨黑藻受胁迫后的光合生理状态, 旨在为阐明黑藻光合系统受 Cd、Zn 胁迫时光系统响应机制提供参考, 为修复湖泊生态系统提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料培养与处理

黑藻取自赣抚平原灌区六干渠, 于 2017 年 6 月初选取长势一致(长度为 18 cm 左右)的植物作为试验材料, 将试验植株先种在装有 10% Hoaglands 营养的塑料箱中驯化 7 d, 再选取长势一致的黑藻 20 株移栽到圆形白色塑料桶(高度 47.5 cm、直径 22.5 cm)中, 桶中底泥厚 5 cm, 种植后注入自来水, 水深 40 cm。整个试验在南昌工程学院生态园内完成, 塑料桶置于南昌工程学院生态园内, 环境温度范围为 25 ~ 29 ℃。试验分为 13 组, 种植 20 d 后, 除对照组外, 其余 12 组均加入不同浓度的 CdCl₂ 溶液和 ZnSO₄ 溶液进行处理(浓度设计见表 1)。重金属的取值范围结合了预试验结果, 以对植株有一定胁迫效应为宜。

1.2 测定方法

1.2.1 叶绿素荧光参数的测定 Cd、Zn 单一及复合胁迫黑藻 5 d 后, 采用德国 WALZ 公司的水下饱和脉冲调制叶绿素荧光仪(DIVING-PAM)测定叶绿素荧光参数, 测定于太阳光尚未照射到水面之前进行。测量前, 叶片经暗适应 20 min 后将叶夹原位夹于黑藻体成熟叶片距离叶尖约 2 cm 处, 开启检测光[0.15 μmol/(m²·s)], 得到暗适应条件下的最小荧光

收稿日期: 2018-01-26

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 51369024, 51769016); 水利部公益项目(编号: 201401039); 江西省教育厅自然科学基金(编号: GJJ170978); 江西省科技厅青年基金(编号: 20161BAB216109); 南昌工程学院研究生创新基金(编号: YJSCX20170001)。

作者简介: 高桂青(1979—), 女, 山东德州人, 博士研究生, 主要从事水生态环境修复研究。E-mail: 342823307@qq.com。

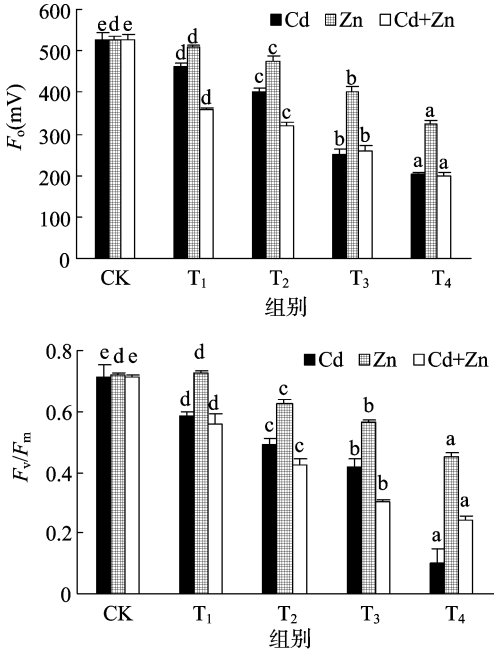
通信作者: 卢 龙, 教授, 博士生导师, 主要从事环境修复和环境监测研究。E-mail: lulong@ncu.edu.cn。

表 1 Cd、Zn 单一及其复合胁迫的浓度设计

组别	重金属浓度(mg/L)		
	Cd	Zn	Cd + Zn
T ₁	0.5	3	0.5 + 3
T ₂	2	5	2 + 5
T ₃	4	7	4 + 7
T ₄	7	10	7 + 10

F_o ，再由饱和脉冲光[4 000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]测定最大荧光 F_m 。

1.2.2 快速光响应曲线 测定于 09:30—11:30 进行，光合有效辐射(PAR)梯度分别为 0、93、249、372、490、555、799、999、1 222 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ，每个强度的光化光照射 10 s，测定最大光化学效率(F_v/F_m)、潜在光化学效率(F_v/F_o)、有效量子产量(Y_{II})、调节性能量耗散的量子产额(Y_{NPQ})、非调节性



能量耗散的量子产额(Y_{NO})、光化学荧光淬灭系数(q_p)、非光化学淬灭系数(q_N)、相对电子传递速率(ETR)等参数。

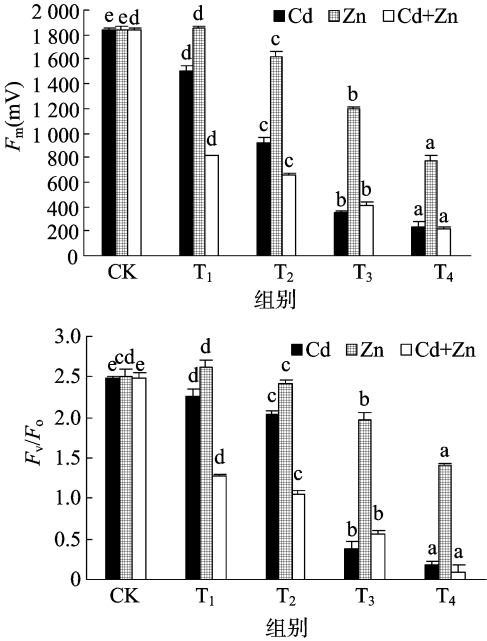
1.3 数据分析

数据结果为“平均值 ± 标准差”，使用 Excel 2016 进行绘图。用 SPSS 19.0 对数据进行单因素方差分析，并采用 SNK 进行多重比较分析， $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 Cd、Zn 单一及复合胁迫对黑藻 F_o 、 F_m 、 F_v/F_m 与 F_v/F_o 的影响

由图 1 可以看出，充分暗适应下各处理的 F_o 、 F_m 、 F_v/F_m 均随着各重金属处理组浓度的增大而降低。这表明随着 Cd、Zn 处理组浓度的增加，黑藻的 PS II 反应中心受到的损害程度增大。



同一胁迫下标有不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同

图 1 不同处理对黑藻 F_o 、 F_m 、 F_v/F_m 以及 F_v/F_o 的影响

单一 Zn 胁迫下， F_o 和 F_m 下降幅度最小。而单一 Cd 胁迫，低浓度 ($\leq 2 \text{ mg/L}$) F_o 和 F_m 降低幅度小于相同处理组复合胁迫 (Cd + Zn) 下的值；而在 Cd^{2+} 较高浓度 ($> 2 \text{ mg/L}$) 胁迫下，单一 Cd 胁迫下， F_o 、 F_m 与 Cd + Zn 复合胁迫下的值较接近。这说明低浓度的 Cd + Zn 复合表现为协同作用。

与对照组相比，除单一 Zn 3 mg/L 胁迫下 F_v/F_m 略有上升外，其他处理均随着处理组浓度的增大而降低。而低浓度 ($\text{Cd}^{2+} \leq 2 \text{ mg/L}$ 、 $\text{Zn}^{2+} \leq 5 \text{ mg/L}$) 时，在相同处理组下，单一 Zn 胁迫影响最小，Cd 次之，复合胁迫降低最大。而在较高浓度 ($\text{Cd}^{2+} > 2 \text{ mg/L}$ 、 $\text{Zn}^{2+} > 5 \text{ mg/L}$) 下，单一 Cd 影响最大，单一 Zn 胁迫影响最小，复合胁迫次之。这表明重金属对黑藻的损害程度表现为：Zn 胁迫 < Cd + Zn 复合胁迫 < Cd 胁迫。

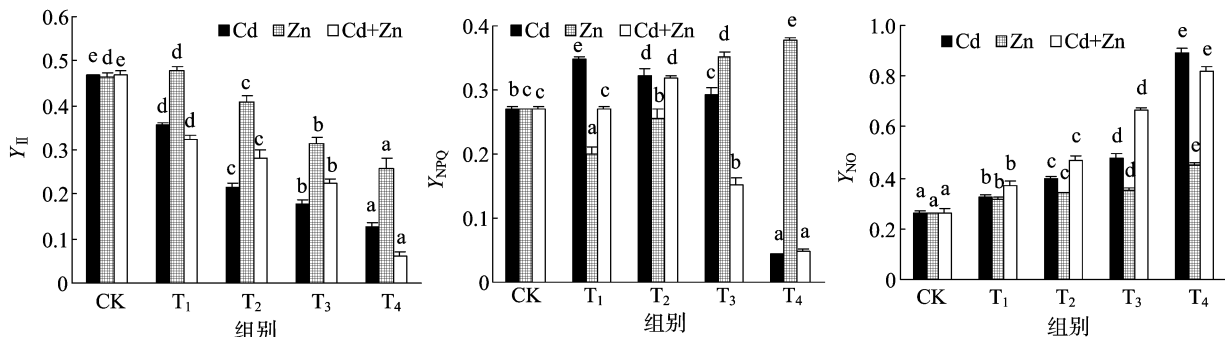
F_v/F_o 与 F_v/F_m 呈现相同的趋势， F_v/F_o 反映了系统 PS II 潜在活性，除了 3 mg/L Zn 胁迫 F_v/F_o 略有升高，其余均随着处理组浓度的增大，PS II 潜在光化学效率均呈现不同程度的降低。表明低浓度 (3 mg/L) 的 Zn 处理能提高黑藻 PS II

潜在活性。

2.2 Cd、Zn 单一及复合胁迫对黑藻 Y_{II} 、 Y_{NPQ} 、 Y_{NO} 的光响应

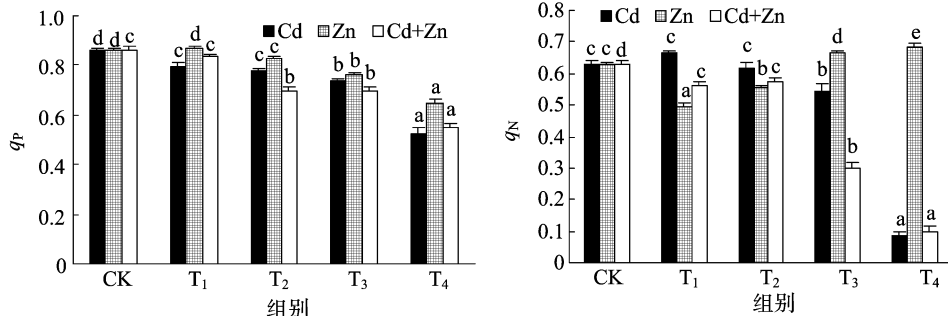
由图 2 可知，随着处理组浓度的增大，无论何种胁迫光系统 II 的有效量子产量 Y_{II} 基本显著减小，但低浓度 ($\leq 3 \text{ mg/L}$) Zn 单一胁迫时 Y_{II} 略有增加。相同处理组下，复合胁迫使得 Y_{II} 降低幅度最大，达 86.99%，单一 Zn 胁迫降幅最小，单一 Cd 胁迫降低幅度次之。这表明重金属离子使 PS II 反应中心受损，抑制光合作用的原初反应，阻碍光合电子的传递过程，金属离子对有效量子产量 Y_{II} 的损害程度表现为：Cd + Zn 复合胁迫 > Cd 胁迫 > Zn 胁迫。

图 2 显示，与 CK 相比，浓度小于 4 mg/L 的 Cd 单一胁迫下的 Y_{NPQ} 均显著增加 ($P < 0.05$)，最高增加了 27.94%，出现在 Cd 浓度为 0.5 mg/L 处；而当 Cd 浓度在 7 mg/L 时， Y_{NPQ} 却降低了 83.82%，可能是较高浓度致死或破坏了植物调节性耗散机制。单一 Zn 胁迫中，低浓度 ($\leq 5 \text{ mg/L}$) 降低了 Y_{NPQ} ，而高浓度增加了 Y_{NPQ} ；复合胁迫下，低浓度 ($\text{Cd}^{2+} \leq 2 \text{ mg/L}$ 、

图2 Cd、Zn 单一及复合胁迫对 Y_{II} 、 Y_{NPQ} 、 Y_{NO} 的光响应

$Zn^{2+} \leq 5 \text{ mg/L}$ 增加了 Y_{NPQ} , 而较高浓度 ($Cd^{2+} > 2 \text{ mg/L}$ 、 $Zn^{2+} > 5 \text{ mg/L}$) 则降低了 Y_{NPQ} 。

由图 2 可知, Y_{NO} 均随处理组浓度增加而增加。其中, Zn 单一胁迫增幅最小, 单一 Cd 胁迫增幅最大, 而复合胁迫居中。说明 Cd、Zn 单一及复合胁迫均对 PS II 造成一定程度的伤害, 导致叶片吸收的部分光量子以非调节性能量耗散, 其耗散程度表现为: Cd 胁迫 > Cd + Zn 复合胁迫 > Zn 胁迫。

图3 Cd、Zn 单一及复合胁迫对 q_p 、 q_N 的光响应

q_N 反映 PS II 反应中心对天然色素吸收光能后以热能形式耗散掉的光能部分, 其值表示光合机构的损伤程度。由图 3 可知, 随浓度增加, Cd 单一胁迫的 q_N 呈先增后降趋势, Zn 单一胁迫是先降后增趋势, 而复合胁迫则是一直处于降低趋势, 很有可能是复合胁迫造成某些机制不可逆转的伤害。

由图 4 可知, Cd、Zn 单一及复合胁迫下, 电子传递速率

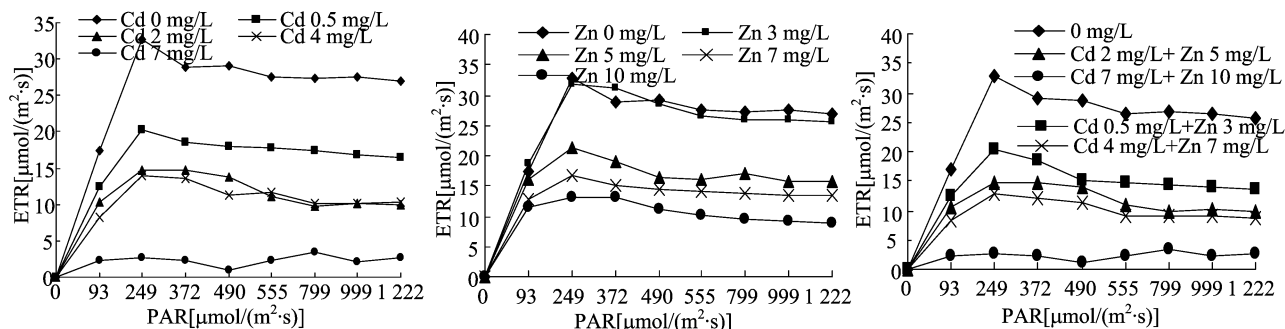


图4 Cd、Zn 单一及复合胁迫对 ETR 的快速光响应

3 结果与分析

无论单一胁迫还是复合胁迫, 除浓度 $\leq 3 \text{ mg/L}$ 的 Zn F_o 、 F_m 、 F_v/F_m 、 F_v/F_o 胁迫略有升高外 (图 1), 其余总体趋势都是降低的, 黑藻叶片 PS II 反应中心发生了光抑制。 F_o 降低可能

2.3 Cd、Zn 单一及复合胁迫对黑藻 q_p 、 q_N 与电子传递速率 (ETR) 的光响应

q_p 是 PS II 天线色素吸收的光能用于光化学电子传递的份额。由图 3 可知, 浓度小于 5 mg/L 的 Zn 胁迫下 q_p 无明显变化, 较高浓度 ($Zn^{2+} \geq 5 \text{ mg/L}$) 明显降低。随着单一 Cd 和复合胁迫浓度升高, q_p 都一直降低, 说明 PS II 中开放的反应中心比例和参与 CO_2 固定的电子减少。

ETR 随着光合辐射强度 PAR 的增加均呈现先增加后下降的趋势, 最大值基本出现在 PAR 为 $249 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 处。同种处理下, 随着处理组浓度的增加, ETR 最大值明显降低; 且相同 PAR 下, 随着处理浓度的增加, ETR 逐渐降低, 表明随着处理浓度的增加, 黑藻的 PS II 光化学反应受到了抑制。

是由 Cd、Zn 胁迫使得 PS II 反应中心部分关闭或者失活, 即原初电子受体 QA 全部氧化时的荧光水平降低引起的; 也可能是 PS II 天线色素的耗散导致 F_o 的降低。因沉水植物的生活特性, 大量重金属加入水体后, 重金属的毒性直接作用于植物叶片和茎, 植物叶片叶绿体类囊体膜上的蛋白复合体部分

失活造成了电子传递和光合磷酸化受阻致使 F_m 降低。重金属处理后 PS II 反应中心出现光抑制的现象, PS II 电子传递受阻, 因此在受到胁迫后 F_v/F_m 和 F_v/F_o 明显降低(图 1)。

单一 Zn 胁迫下, 黑藻 F_o 、 F_m 、 F_v/F_m 、 F_v/F_o 的降幅均小于单一 Cd 及 Cd + Zn 复合胁迫。表明 Zn 对黑藻的毒害作用小于 Cd + Zn 复合, 可能因为 Zn 是植物必需元素, 低浓度的 Zn 能促进叶片光和色素的形成, 高浓度则是抑制; Cd 能导致气孔关闭, 扰乱植物水分状况, 降低叶绿素含量和叶绿体数量, 减少营养元素吸收, 削弱光合作用, 并可诱导产生金属螯合肽和结合蛋白等解毒物质, 所以才出现 Zn 毒性 < Cd 毒性。

低浓度的 Cd、Zn 复合对 F_v/F_m 、 F_v/F_o 和 Y_{NPQ} 表现为协同作用, 原因可能是: (1) 低浓度的 Zn 隔断 Cd 对硫蛋白生物合成过程的诱导表达信息的传导途径^[8], 增强了 Cd 的毒害作用; (2) Zn 刺激根部产生更多的转运载体^[13], 促进了与 Zn 相似性质 Cd 的吸收和转运, 降低了植物对 Cd 的控制力。较高浓度表现为拮抗作用, 原因可能是: (1) Zn 和 Cd 具有相同的价态(2+), 近似相同的离子半径, 相似的化学性质, 可以相互取代, 发生竞争; (2) Cd 进入细胞之后, 竞争 Zn 酶中 Zn 的结合位点, 进而取代锌, 使锌酶活性降低, 甚至完全丧失^[8]。

PS II 反应中心吸收的光量子主要通过 3 个途径进行转化与耗散, 即 Y_{II} 、 Y_{NPQ} 和 Y_{NO} , 所有量子产量比例总和始终接近于 1, 即 $Y_{II} + Y_{NPQ} + Y_{NO} = 1$ 。已有研究表明, Cd、Zn 使植物超微结构叶绿体膨胀、叶绿体膜断裂; 线粒体脊突膨胀和部分溶解、部分类囊体溶解和散到细胞质中, 造成光能的吸收、能量的转换及光合电子传递受阻, 从而降低光化学能量途径转化能的比例^[14]。在一定浓度范围内, 黑藻有能力通过自身的调节机制耗散掉过剩的光能而使 PS II 反应中心受伤害程度降低, 实现自我保护, 但超过一定浓度范围后, 黑藻的自我调节机制无法承受, 致使 PS II 反应中心受到不可逆转的伤害。

q_p 反映了 PS II 天线色素吸收的光能用于光化学电子传递的比例, 由图 3 可知, 较高浓度 ($Zn^{2+} > 5 \text{ mg/L}$ 、 $Cd^{2+} > 2 \text{ mg/L}$) Cd、Zn 单一及复合胁迫可以明显抑制黑藻叶片 PS II 反应中心的开放比例和参与光化学反应电子传递的能量, 致使植物光合活性降低。

q_N 对叶绿体能量状态的改变是非常敏感的, 本研究中 Zn 单一胁迫下 q_N 先降低后升高, 说明一定浓度范围(5 ~ 10 mg/L)的 Zn 会刺激黑藻使其光保护能力增强; Cd 单一胁迫下 q_N 先升高而降低, 说明低浓度 ($\leq 2 \text{ mg/L}$) Cd 会刺激黑藻的光保护能力增强, 但超过一定范围 ($\geq 7 \text{ mg/L}$), 它的光保护机制会受到不可逆转的损害; Cd + Zn 复合胁迫下, q_N 均是一直降低, 说明复合胁迫对黑藻光系统保护机损害强于 Cd、Zn 单一胁迫(图 3)。

本研究中 3 种胁迫下, 在 PAR 为 $249 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时, 黑藻叶片 ETR 达到最大饱和, 同时随 PAR 增强呈现平缓下降的趋势, 黑藻对光的响应能力随光强增加而减弱(图 4)。这意味着 PS II 反应中心部分关闭或失活, 过剩的能量以非光化学淬灭的形式耗散掉, 一种形式是用于自身光合作用, 另一种是增加热耗散来避免强光对光合系统的伤害^[15]。

4 结论

Cd、Zn 单一和复合胁迫均使黑藻受到不同程度的毒害,

其中单一 Cd 及 Cd + Zn 复合毒害程度严重。Cd 污染严重水域通过测定荧光参数来指示污染程度。

低浓度 ($\leq 3 \text{ mg/L}$) Zn^{2+} 下, 黑藻叶片 F_m 、 F_v/F_m 、 Y_{II} 等略有增加, 可以适当施加一定 Zn 促进植物光合。

受到不同浓度重金属毒害时, 黑藻通过调节 PS II 反应中心开放程度与活性, 实现光保护能力, 对 Zn 胁迫表现出较强的耐性, Cd 次之, Cd + Zn 复合最小。高浓度重金属胁迫导致 PS II 反应中心关闭或不可逆失活, 表现出光抑制。

参考文献:

- [1] Mallick N, Rai L C. Physiological responses of non-vascular plants to heavy metals [M]//Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants. Berlin:Springer Netherlands, 2002:111-147.
- [2] Qin T C, Wu Y S, Wang H X, et al. Effect of cadmium, lead and their interactions on the physiological and ecological characteristics of root system of *Brassica chinensis* [J]. Acta Ecologica Sinica, 1998, 18 (3):320-325.
- [3] Baszynski T, Wajda L, Krol M, et al. Photosynthetic activities of cadmium-treated tomato plants [J]. Physiologia Plantarum, 1980, 48 (3):365-370.
- [4] Janssen L H J, Wams H E, van Hasselt P R V. Temperature dependence of chlorophyll fluorescence. induction and photosynthesis in tomato as affected by temperature and light conditions during growth [J]. Journal of Plant physiology, 1992, 139 (5):549-554.
- [5] Misra A, Srivastava A K, Srivastava N K, et al. Zn-acquisition and its role in growth, photosynthesis, photosynthetic pigments, and biochemical changes in essential monoterpene oil (s) of *Pelargonium graveolens* [J]. Photosynthetica, 2005, 43 (1):153-155.
- [6] 徐勤松, 施国新, 周红卫, 等. Cd、Zn 复合污染对水车前叶绿素含量和活性氧清除系统的影响 [J]. 生态学杂志, 2003, 22 (1):5-8.
- [7] 黄亮, 李伟, 吴莹, 等. 长江中游若干湖泊中水生植物体内重金属分布 [J]. 环境科学研究, 2002, 15 (6):1-4.
- [8] 徐勤松, 施国新, 王学, 等. 镉、铜和锌胁迫下黑藻活性氧的产生及抗氧化酶活性的变化研究 [J]. 水生生物学报, 2006, 30 (1):107-112.
- [9] 简敏菲, 汪斯琛, 余厚平, 等. Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 胁迫对黑藻的生长及光合荧光特性的影响 [J]. 生态学报, 2016, 36 (6):1719-1727.
- [10] 施国新, 杜开和, 解凯彬, 等. 汞、镉对黑藻叶细胞伤害的超微结构研究 [J]. 植物学报, 2000, 42 (4):373-378.
- [11] 胡丰蛟, 黄鑫浩, 朱凡, 等. 叶绿素荧光动力学技术在胁迫环境下的研究进展 [J]. 广西林业科学, 2017, 46 (1):102-106.
- [12] 肖遥, 张蕊, 刘慧慧, 等. 不同产地南方红豆杉育种亲本叶绿素含量及荧光参数差异分析 [J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2017, 41 (3):57-64.
- [13] Lasat M M, Baker A J M, Kochian L V. Physiological characterization of root Zn^{2+} absorption and translocation to shoots in Zn hyperaccumulator and nonaccumulator species of *Thlaspi* [J]. Plant Physiology, 1996, 112 (4):1715-1722.
- [14] 钱永强, 周晓星, 韩蕾, 等. Cd^{2+} 胁迫对银芽柳 PSII 叶绿素荧光光响应曲线的影响 [J]. 生态学报, 2011, 31 (20):6134-6142.
- [15] Wang L, Yang H Q, Fan W G, et al. Effect of $CdCl_2$ treatment on photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence parameters in *Malus hupehensis* leaves [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43 (15):3176-3183.