

铅胁迫对玉米幼苗叶片光系统功能及光合作用的影响

姚 广^{1,2}, 高辉远^{1,2,*}, 王未未¹, 张立涛¹, 部建雯¹

(山东农业大学, 1 生命科学学院, 2 作物生物学国家重点实验室, 泰安 271018)

摘要:通过同时测定玉米叶片的叶绿素荧光快速诱导动力学曲线和对 820 nm 光的吸收、分析叶片的气体交换过程以及叶绿体活性氧清除关键酶的活性,研究了不同浓度的铅(Pb)胁迫对玉米光系统 I (PS I)、光系统 II (PS II) 的光化学活性和光合作用的影响,并分析了 Pb 胁迫下两个光系统的相互关系。结果表明:铅胁迫显著抑制了玉米地上部分和地下部分的生长、降低了叶片光合色素含量、并通过非气孔因素限制了光合作用、导致过剩激发能的增加;铅胁迫显著抑制了超氧化物歧化酶(SOD)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)的活性、伤害了 PSII 反应中心、PSII 的受体侧和供体侧(放氧复合体)以及 PSI 光化学活性。

关键词:铅胁迫;PSII;PSI;放氧复合体(OEC);820nm 光吸收;SOD 和 APX

文章编号:1000-0933(2009)03-1162-08 中图分类号:Q948 文献标识码:A

The effects of Pb-stress on functions of photosystems and photosynthetic rate in maize seedling leaves

YAO Guang^{1,2}, GAO Hui-Yuan^{1,2,*}, WANG Wei-Wei¹, ZHANG Li-Tao¹, BU Jian-Wen¹

1 College of Life Science, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China

2 State key Laboratory of Crop Biology, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(3): 1162 ~ 1169.

Abstract: By simultaneously analyzing chlorophyll a fluorescence transient and light absorbance at 820 nm, gas exchange and activities of key scavenging enzymes of reactive oxygen species (ROS) in chloroplasts, we investigated the effects of Pb treatments with different concentration on photochemical activities of photosystem I (PSI) and photosystem II (PSII) and on photosynthesis in maize seedling leaves, and analyzed the interaction of PSI and PSII. The results showed that Pb treatments restrained growth significantly, decreased pigment content. The Pb treatments decreased net photosynthetic rate via non-stomatal limitations in the maize leaves, which increased the excess excitation energy. The Pb treatment also inhibited the activities of SOD and APX and damaged the reaction centers, donor and acceptor sides of PSII and the photochemical activity of PSI in maize leaves.

Key Words: Pb stress;PSII;PSI;oxygen-evolving complex (OEC);820 nm absorbance;SOD and APX

土壤的 Pb 污染是常见的一种环境污染,Pb 通过采矿、金属的冶炼、含铅汽油的燃烧、污水灌溉等方式进入土壤^[1],很难被移除也不能被微生物降解。Pb 还会影响植物的生长发育。已有研究报道,植物生长在含 Pb 的土壤中,其很多代谢途径如光合作用、呼吸作用、色素合成、抗氧化酶活性等都会受到影响从而抑制植物的生长^[2,3]。因为光合作用是植物生存的能量和物质基础,所以重金属对光合作用的抑制是限制植物生长和产量最重要的因素。虽然已有不少研究者报道了 Pb 对植物光合作用的影响^[4,5],但是对 Pb 抑制植物光合作用的机制尚不清楚。光合机构叶绿体及其类囊体膜上的光系统 I (PSI) 和 PSII 是植物对环境变化最敏感的部位,许多逆境如干旱、高温、盐胁迫等都会影响植物光合机构的结构和功能^[6,7]。Pb 是否会通过与类囊体膜上

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 30671451, 30571125);高校博士点专项基金资助项目(No. 20050434007)

收稿日期:2007-10-08; **修订日期:**2008-12-31

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: gaohy@sdau.edu.cn

脂类和蛋白的结合而改变类囊体结构进而影响两个光系统的活性? Pb 是通过气孔因素还是非气孔因素来抑制光合作用?

植物光合碳同化受到抑制时会增加叶片的过剩激发能,如果不能及时清除就会导致活性氧的产生。定位在叶绿体中的抗氧化酶 SOD 和 APX 能够清除活性氧从而保护光合机构免受活性氧的伤害。Pb 胁迫是否会因为抑制光合碳同化和叶片抗氧化酶的活性而增加了活性氧的积累,进而加重对光合机构的伤害? 阐明以上的问题,能够加深理解 Pb 对植物的伤害机制、对筛选和利用抗 Pb 的植物品种有重要的指导意义。

以前研究植物光系统功能时,主要在离体条件下进行,而且很难同时研究 PSII 和 PSI 两个光系统的功能。英国 Hansatech 公司新近开发的 PEA-Senior 是一种可以同时测定植物叶片快速叶绿素荧光诱导动力学曲线和 820nm 光吸收动力学曲线的系统。利用快速叶绿素荧光测定和分析技术(JIP-test),可以方便、快速和无损伤地分析逆境胁迫下 PS II 的功能变化,包括反应中心、电子供体侧和受体侧的变化^[8,9];利用植物对 820nm 光的吸收技术,可以分析 PSI 功能的变化^[10]。对上述两个过程同时测定,便可以分析植物在逆境胁迫下 PSI 和 PSII 功能对逆境的不同响应。本文利用 PEA-Senior 结合气体交换分析和叶片抗氧化酶活性分析,探讨了 Pb 胁迫对玉米叶片 PSII 和 PSI 活性和光合作用的影响。

1 材料与方法

1.1 材料处理

以玉米(鲁玉 9 号)为实验材料,室外自然条件下盆栽,将发芽的玉米种子播种在石英砂中,每天浇适量的 Hoagland 营养液,待玉米长到两叶一心期时分别用含 Pb 0、0.25、0.5 mmol·L⁻¹ (Pb:EDTA = 1:1) 的 3 种 Hoagland 营养液处理植株(3 个处理分别表示为:CK、T1、T2),对照在营养液中加入相同浓度的 EDTA,为了保证处理期间,培养液中的离子浓度相对恒定,每天用相当于盆中石英砂最大持水量 2 倍的营养液冲洗盆中石英砂,让多余的溶液从渗水孔流出。处理 15d 后以最新充分展开的玉米叶片为材料进行各种实验。

1.2 气体交换参数的测定

净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、细胞间隙 CO₂ 浓度(C_i) 等参数用 CIRAS-2 型便携式光合作用测定系统(PP-Systems, 英国)测定。利用 CIRAS-2 光合测定系统的自动控制系统,在 360 μmol·mol⁻¹ 的 CO₂、25℃ 下,按 1800、1500、1200、1000、800、600、400、300、200、150、100、50、0 μmol·m⁻²·s⁻¹ 的光强(PFD) 顺序作 P_n - PFD 响应曲线,在每个光强下适应 3min 后测定。根据 P_n - PFD 响应曲线的初始斜率计算表观量子效率(AQY);在 1200 μmol·m⁻²·s⁻¹ 的光强下测定在 50、100、150、200、300、400、600、800、1100、1400 μmol·mol⁻¹ CO₂ 条件下的 P_n 和 C_i ,制作 P_n - C_i 响应曲线,在每个 CO₂ 浓度下适应 3min 后测定。根据 P_n - C_i 响应曲线的初始斜率计算羧化效率(CE)。

1.3 快速叶绿素荧光诱导动力学曲线和 PSI 对 820 nm 相对吸收值 $\Delta I/I_0$ 的测定

参考 Schansker 等的方法,叶片先暗适应 20 min,然后利用 PEA-Senior(Hansatech, 英国)同时测定叶片快速叶绿素荧光诱导动力学曲线(O-J-I-P 曲线)和对 820nm(远红光测量光为峰值(820 ± 20) nm 的 LED 光源)的光吸收曲线。O-J-I-P 曲线由 3000 μmol·m⁻²·s⁻¹ 的脉冲光诱导,荧光信号记录是从 10 μs 开始,至 1s 结束,记录的初始速率为每秒种 10⁵ 个数据。以 820 nm 光吸收的最大值与最小值的差值($\Delta I/I_0$) 作为衡量 PSI 最大活性指标^[9]。O-J-I-P 荧光诱导曲线用 JIP-test 进行分析^[10],各参数的意义及计算公式如下:

最大光化学效率: TR_0/ABS ; J 点的相对可变荧光: V_j ; O-J-I-P 荧光诱导曲线的初始斜率: M_0 ; 单位内吸收的光能: ABS/CS ; 吸收一个光量子需要的反应中心的数目: RC/ABS ; 在 O-J-I-P 荧光诱导曲线 O 点、K 点和 J 点的荧光强度分别为: F_0 、 F_K 和 F_J 。

PSII 最大光化学效率: $\varphi_{P_0} \equiv TR_0/ABS$;

捕获的激子将电子传递到电子传递链中超过 Q_A 的其它电子受体的概率: $\psi_0 \equiv (1 - V_j)$;

用于电子传递的量子产额: $\varphi_{E_0} \equiv \varphi_{P_0} \cdot \psi_0$;

单位面积有活性的 PSII 反应中心的数量: $RC/CS_0 = \varphi_{P_0} \cdot (V_j/M_0) \cdot (ABS/CS)$;

以吸收光能为基础的光化学性能指数: $PI_{ABS} = (RC/ABS) \cdot (\varphi_{Po}/(1 - \varphi_{Po})) \cdot (\psi_o/(1 - \psi_o))$;

K 点的相对可变荧光: $W_k = (F_k - F_o)/(F_J - F_o)$ 。

1.4 荧光参数的测定

利用 FMS-2 型脉冲调制式荧光仪(Hansatech, 英国)测定初始荧光 F_o 、最大荧光 F_m 、光下最大荧光 F_m' 、稳态荧光 F_s 及光下最小荧光 F_o' 等荧光参数。测定暗适应下叶片的 F_o 和 F_m 时, 需要把叶片夹入暗适应夹中暗适应 20min。每次测定 F_s 和 F_m' 时, 使用 FMS-2 的作用光光源, 在 $800 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 作用光下, 将材料充分进行光化学启动达到稳态, 测得稳态荧光 F_s , 然后启动饱和脉冲光测得 F_m' , 接着启动远红光测得 F_o' , 各荧光参数的计算公式如下:

PSII 最大光化学效率 $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ ^[11];

PSII 天线转化效率 $F'v/F_m' = (F_m' - F_o')/F_m'$;

PSII 反应中心关闭程度 $1 - qP = 1 - (F_m' - F_s)/(F_m' - F_o')$ ^[12];

PSII 的实际光化学效率 $(\Phi PSII) = (F_m' - F_s)/F_m'$;

非光化学猝灭 $(NPQ) = F_m/F_m' - 1$ ^[13]。

1.5 叶绿体色素含量的测定

参考 Arnon 的方法, 称鲜样 0.2g 置于 10ml 80% 的丙酮中暗处浸提 48h, 其间振荡两次, 待叶片完全发白, 色素全部溶于丙酮溶液中。用 UV-1601(岛津, 日本)分光光度计分别测定在 663、646、470nm 处的 OD 值, 计算叶绿素 a、b 和类胡萝卜素的含量。

1.6 植物生长量的测定

取 CK、T1、T2 生长一致的黄瓜幼苗各 5 棵用蒸馏水清洗干净, 将根剪下、烘干、称重。分别计算地下、地上部分干重。

1.7 超氧化物歧化酶(SOD)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的测定

称取 0.5 g 叶片, 在 5 ml 预冷的 pH 7.8 的磷酸缓冲液中冰浴研磨, 于 4℃ 下 $12\,000 \times g$ 离心 20 min, 上清液即为酶提取液。SOD 活性的测定用 Giannopolitis 和 Ries 的方法 ^[14]; APX 活性的测定用 Nakano 和 Asada 的方法 ^[15]。以 $A_{560 \text{ nm}}$ 下抑制 NBT 还原的 50% 所需的酶量为 SOD 的一个酶活单位 (unit); 在一级反应范围内, 以吸光值在 $A_{290 \text{ nm}}$ 时每分钟的下降低值为 APX 的一个酶活单位 (unit)。SOD 和 APX 活性测定的比色均用 UV-1601 型分光光度计(岛津, 日本)进行。

1.8 用 DPS 数据处理系统对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 Pb 胁迫对玉米幼苗叶片净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)等参数的影响

不同浓度的 Pb 胁迫处理玉米幼苗 15d 后, 玉米叶片的 P_n -PAR 响应曲线和 P_n -Ci 响应曲线均发生了显著的变化, 如图 1 所示, 两条响应曲线的初始斜率和最大值与对照相比都明显降低。玉米叶片的净光合速率 (P_n)、气孔导度 (G_s)、表观量子效率 (AQY)、羧化效率 (CE) 降低, 而细胞间隙 CO_2 浓度 (Ci) 升高, 且随着处理浓度的增大各参数的变化幅度变大 (表 1), $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Pb 处理后其 P_n 、 G_s 、AQY 和 CE 分别为对照的 16.1%、27.1%、29.6% 和 12.4%, 而 Ci 则为对照的 305%。

2.2 Pb 胁迫对玉米幼苗生物量以及叶片色素含量的影响

Pb 胁迫处理后, 玉米幼苗叶片的叶绿素 a、b 以及类胡萝卜素含量下降, 且随着 Pb 处理浓度的增大, 各色素含量下降幅度增大 (表 2)。 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Pb 处理后其叶片叶绿素 a、b 和类胡萝卜素的含量分别为对照的 18.6%、16.2%、22.0%。与对照相比, Pb 胁迫 15d 后玉米幼苗的地上部分干重、地下部分干重显著下降 (图 2)。

2.3 Pb 胁迫对玉米叶片光系统 II 和光系统 I 的影响

从快速叶绿素荧光诱导动力学曲线可以得到很多关于 PSII 供体侧、受体侧以及反应中心的信息 ^[16,17]。

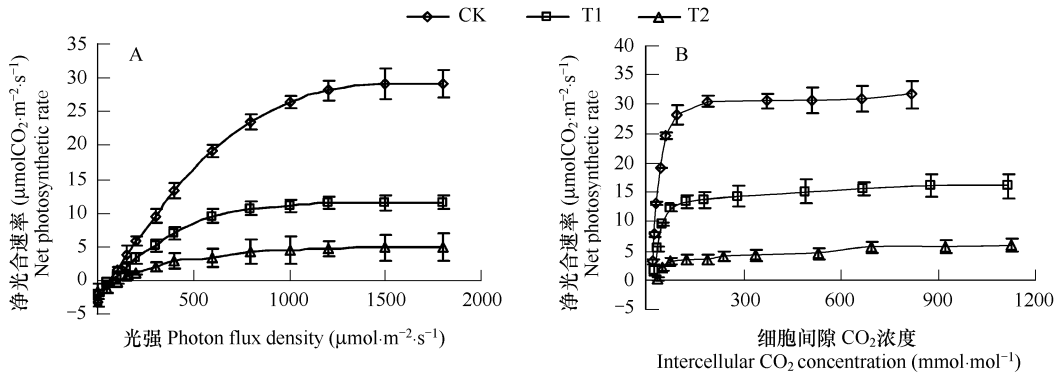


图1 Pb处理对玉米幼苗叶片的光强-光合响应曲线(A)和CO₂-光合响应曲线(B)的影响

Fig. 1 Effects of Pb treatments on response curves of photosynthesis-PFD (A) and photosynthesis-CO₂ (B) in maize seedling leaves

每个数据为3个叶片测定的平均值,图中CK、T1、T2分别为:0、0.25 mmol·L⁻¹和0.5 mmol·L⁻¹的Pb处理 Data are each the mean of 3 independent measurements with standard errors shown by vertical bars; CK、T1 and T2 represents the treatment with concentration of 0, 0.25 8mmol·L⁻¹ and 0.5 mmol·L⁻¹ Pb respectively; The same is used in all other figures

Pb胁迫后,快速叶绿素荧光诱导动力学曲线的形状发生变化,K点上升(图3),K点的相对可变荧光 W_k 随着Pb胁迫浓度的增大上升幅度变大。由表2可知,0.25 mmol·L⁻¹Pb处理没有引起 F_v/F_m 的明显变化,0.5 mmol·L⁻¹Pb处理后 F_v/F_m 为对照的86.9%。玉米叶片的光化学性能指数(PI_{ABS})、电子传递量子产额(ϕ_{Eo})、捕获的激子将电子传递到电子传递链中超过 Q_A 的其它电子受体的概率(ψ_o)、单位面积有活性的PSII反应中心的数量(RC/CS_o)都随着Pb处理浓度的增大而显著下降。

表1 Pb处理对玉米幼苗叶片 Pn 、 Ci 、 G_s 、 AQY 、 CE 的影响

Table 1 Effects of Pb treatments on Pn , Ci , G_s , AQY and CE in maize seedling leaves

Pb 处理 Pb Treatment (mmol·L ⁻¹)	净光合速率(Pn) net Photosynthetic rate ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	细胞间隙CO ₂ 浓度 (Ci) Intercellular CO ₂ concentration ($\mu\text{mol}/\text{mol}$)	气孔导度(G_s) Stomatal conductance ($\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	表观量子效率(AQY) Apparent quanta yield ($\text{CO}_2\cdot\text{photon}^{-1}$)	羧化效率(CE) Carboxylation efficiency ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)
0	28.2 ± 1.5a	60 ± 13a	188 ± 5a	0.0425 ± 0.0019a	0.596 ± 0.086a
0.25	11.5 ± 1.0b	96 ± 11b	81 ± 11b	0.024 ± 0.0029b	0.211 ± 0.036b
0.5	4.5 ± 1.1c	183 ± 17c	51 ± 10c	0.0126 ± 0.0038c	0.074 ± 0.025c

数据后的不同小写字母表示不同处理之间达到 $P=0.05$ 水平的显著差异,以下各图、表相同 Values with a different letters are significantly different at the level $P=0.05$. The same is used in all other figures and tables

表2 Pb处理对玉米幼苗叶片的色素含量($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ DW)的影响

Table 2 Effects of Pb treatments on pigment content($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ DW) in maize leaves

处理 Treatment (mmol·L ⁻¹)	叶绿素a Chlorophyll a	叶绿素b Chlorophyll b	叶绿素a+b Chlorophyll a+b	类胡萝卜素 Carotenoid
0	11.60 ± 0.53a	3.36 ± 0.31a	14.96 ± 0.84a	2.27 ± 0.14a
0.25	4.07 ± 0.12b	0.981 ± 0.07b	5.05 ± 0.16b	0.99 ± 0.03b
0.5	2.15 ± 0.10c	0.57 ± 0.03c	2.71 ± 0.13c	0.50 ± 0.02c

Pb胁迫后,玉米叶片PSI最大活性($\Delta I/I_o$)下降,且随着胁迫浓度的增大下降程度变大(图4B)。

2.4 Pb胁迫对玉米叶片光系统II光化学反应的影响

与对照相比,Pb胁迫后玉米叶片PSII反应中心光能捕获效率(F_v'/F_m'),PSII实际光化学效率(ϕ_{PSII})下降,而反应中心关闭程度($1-qP$),非光化学猝灭(NPQ)上升(图5)。表明Pb胁迫改变了玉米叶片激发能的分配。

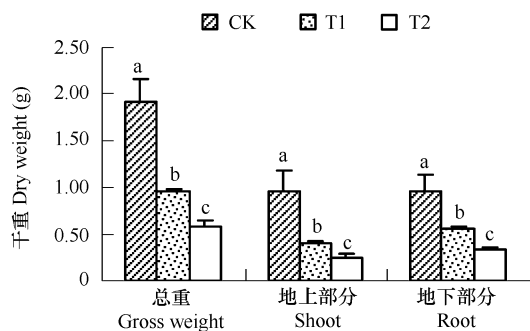


图2 不同浓度 Pb 处理对玉米幼苗生物量的影响

Fig. 2 Effects of Pb treatments on biomass of maize seedlings

每个数据为 5 个植株测定的平均值 Data are each the mean of 5 independent seedlings with standard errors shown by vertical bars

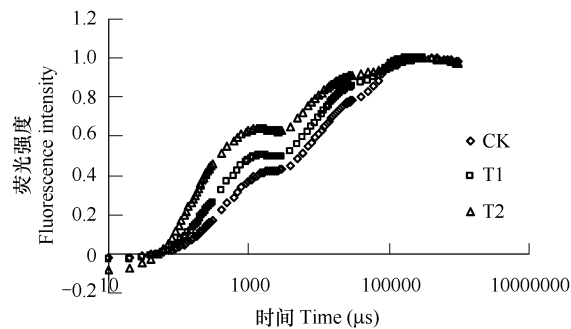
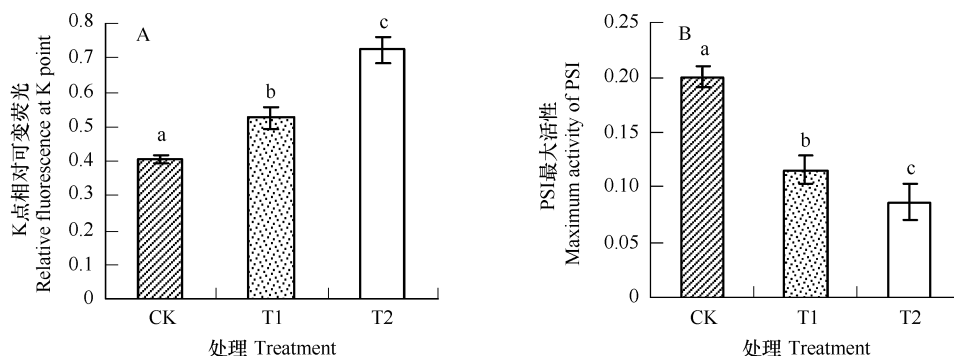


图3 Pb 处理对玉米幼苗叶片快速叶绿素荧光诱导动力学曲线的影响

Fig. 3 Effects of Pb treatments on chlorophyll a fluorescence transient in maize leaves Data are each the mean of 5 independent measurements

表3 Pb 处理对玉米幼苗叶片叶绿素荧光参数 F_v/F_m 、 PI_{ABS} 、 ϕ_{E0} 、 ψ_0 、 RC/CS_0 的影响Table 3 Effects of Pb treatments on fluorescence parameters F_v/F_m , PI_{ABS} , ϕ_{E0} , ψ_0 , RC/CS_0 in maize seedling leaves

处理 Treatment (mmol·L ⁻¹)	PSII 最大光 化学效率 F_v/F_m	光化学性能指数 PI_{ABS}	用于电子传递 的量子产额 ϕ_{Po}	捕获的激子将电子 传递到电子传递链中 超过 Q_A 的其它电子 受体的概率 ψ_0	单位面积有活性 的反应中心的数量 RC/CS_0
0	0.809 ± 0.006a	2.42 ± 0.281a	0.452 ± 0.011a	0.578 ± 0.011a	296 ± 12a
0.25	0.800 ± 0.018a	1.28 ± 0.316b	0.379 ± 0.021b	0.501 ± 0.015b	193 ± 21b
0.5	0.703 ± 0.023b	0.276 ± 0.156c	0.228 ± 0.045c	0.368 ± 0.057c	141 ± 37c

图4 Pb 处理对玉米幼苗叶片 K 点相对可变荧光 (W_k) (A) 和 PSI 最大活性 ($\Delta I/I_0$) (B) 的影响Fig. 4 Effects of Pb treatments on the relative fluorescence at K point (W_k) (A) and the maximum activity of PSI ($\Delta I/I_0$) (B) in maize leaves

2.4 Pb 胁迫对玉米叶片抗氧化酶活性的影响

由图 6 可以看出, Pb 处理降低了玉米叶片 SOD 和 AXP 的活性, 且随着处理浓度的增大两种酶活性下降幅度都增大。

3 讨论

Pb 胁迫后玉米叶片的净光合速率和气孔导度都显著下降, 但同时细胞间隙 CO_2 浓度明显升高 (表 1)。Farquhar 和 Sharky 认为只有当气孔导度与细胞间隙 CO_2 浓度以相同的方向变化时, 才能确定光合的下降是气孔限制造成的^[18]。根据这一判据可以断定, Pb 胁迫是通过叶肉因素限制光合作用的。在影响光合碳同化的各种叶肉因素中, 1,5-二磷酸核酮糖羧化加氧酶 (Rubisco) 活性的大小是限制光合作用暗反应的关键因素。

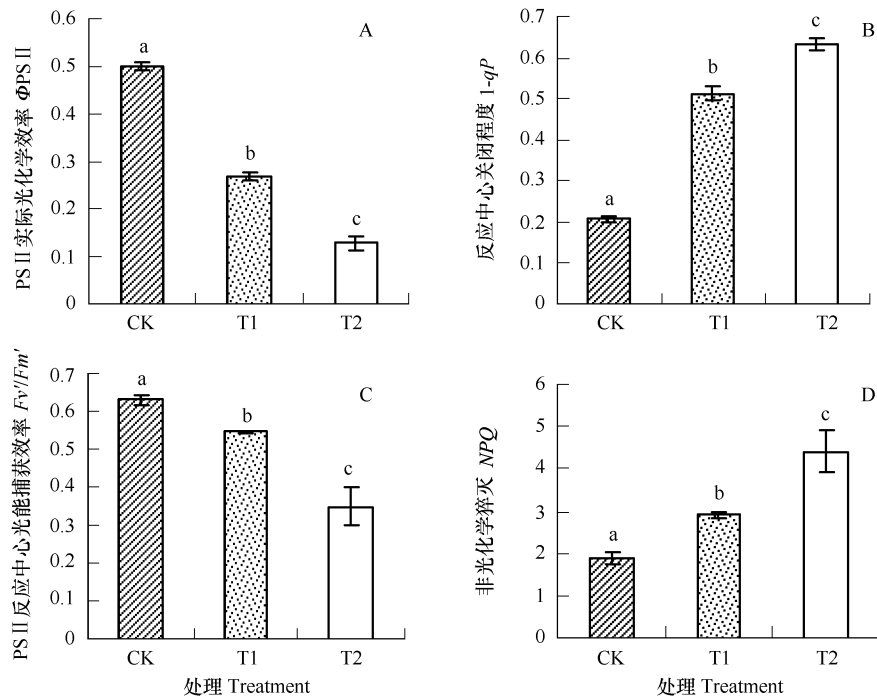


图5 Pb处理对玉米幼苗叶片 Φ_{PSII} (A)、 $1-qP$ (B)、 F_v'/F_m' (C)和 NPQ (D)的影响

Fig. 5 Effects of Pb treatments on Φ_{PSII} (A), $1-qP$ (B), F_v'/F_m' (C) and NPQ (D) in maize leaves

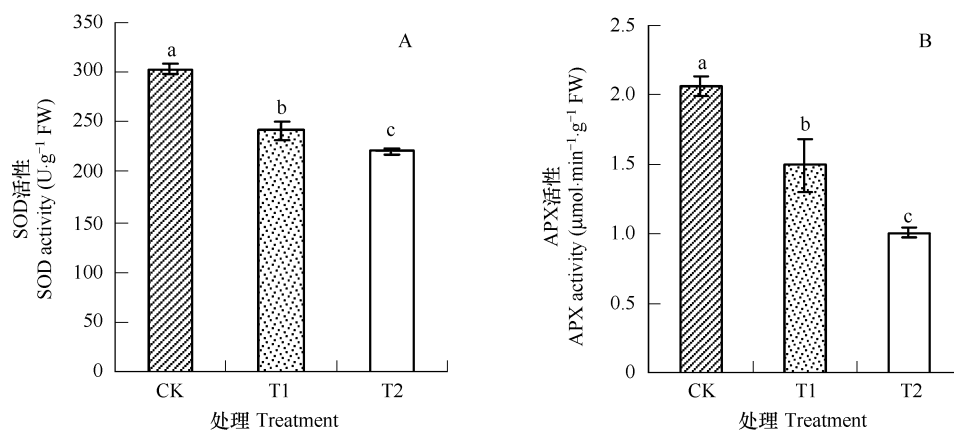


图6 Pb处理对玉米幼苗SOD(A)和APX(B)活性的影响

Fig. 6 Effects of Pb treatments on activity of SOD (A) and APX (B) in maize leaves

现已证明,光合作用的羧化效率与 Rubisco 活性密切相关^[19],Pb 胁迫后玉米叶片的羧化效率(CE)显著下降的事实(表1)表明 Rubisco 的活性受到抑制。Pb 能与蛋白质的巯基(-SH)结合而影响酶活性^[20],这可能是 Pb 导致 Rubisco 的活性下降的主要原因,而 Rubisco 活性下降通过影响光合作用的暗反应导致净光合速率显著下降(图1)。

快速叶绿素荧光诱导动力学曲线能够灵敏地反映光合机构的功能^[10],诱导曲线中的 K 点的出现是放氧复合体(OEC)受伤害的一个标志, K 点的相对变化(W_k)代表放氧复合体被破坏的程度^[21,22],Pb 胁迫后玉米叶片 W_k 上升,表明 Pb 伤害了 OEC,影响 PSII 供体侧的电子传递。Rashid 等的离体实验表明 Pb^{2+} 竞争性抑制放氧复合体中 23KD 蛋白上 Ca^{2+} 和 Cl^{-} 的结合位点,影响 23KD 蛋白的活性从而抑制放氧复合体的活性^[23]。在活体玉米上的测定结果进一步证实了这一结论。Pb 胁迫后单位叶面积内有活性的反应中心(RC/

CSO) 显著下降, 表明 Pb 胁迫伤害了光合作用反应中心。 $1 - qP$ 这一参数被广泛地用于衡量 PSII 反应中心的关闭程度, 即质体醌 Q_A 的还原程度。Pb 胁迫下 $1 - qP$ 的降低表明 Pb 胁迫限制了 PSII 的激发电子有效地向下游传递, 使过剩激发能增加, 这是因为 Pb 胁迫伤害了 PSII 的受体侧包括 PSI 的电子传递, 这一点可由 Pb 胁迫显著降低 φ_{E_0} 和 ψ_0 这一事实得到证实。光化学性能指数 (PI_{ABS}) 是一个综合反映 PSII 最大光化学效率、PSII 有活性反应中心的数目以及 PSII 受体侧电子传递效率的荧光参数, 它能更全面和更灵敏地反映 PSII 的状态和活性^[8,9,17], Pb 胁迫后 PI_{ABS} 显著下降的事实说明整个 PSII 的结构和功能都受到了严重伤害。

叶片对 820 nm 光的吸收 ($\Delta I/I_0$) 反映了 PSI 反应中心 P700 的最大氧化还原能力^[10]。Pb 胁迫后 $\Delta I/I_0$ 显著降低 (图 2B), 表明 PSI 受到伤害。PSI 活性的降低被认为是活性氧造成了铁硫 (FeS) 中心、PsaA 和 PsaB 蛋白亚基的降解^[24]。定位在叶绿体中 SOD 和 APX 是叶绿体中活性氧清除的关键酶, 它们活性的大小对保护 PSI 免受活性氧的伤害起至关重要的作用。而 Pb 胁迫导致 SOD 和 APX 活性大幅度的下降 (图 6), 不可避免地增加了 PSI 受活性氧伤害的可能。Pb 胁迫后 PSI 活性大幅度下降, 一方面是由于 Pb 胁迫抑制了光合作用的暗反应 (图 1, 表 1), 降低了光合机构对激发能的利用 (图 5), 导致过剩激发能增多进而形成更多的活性氧; 另一方面是 Pb 抑制了叶绿体活性氧清除系统的活性 (图 6)。导致活性氧不能有效地清除, 使活性氧的净积累增加, 最终导致 PSI 受到伤害。

现已证明 PSII 的光抑制程度与 Q_A 的还原程度密切相关^[25], 如果 PSI 遭到破坏, 它从 PSII 接收的电子减少, 就会加剧 Q_A 的还原程度, 从而加剧 PSII 的光抑制。从本研究的结果可以看出, 随着 Pb 胁迫的加重, 玉米叶片 PSI 的最大活性不断下降 (图 4), 同时 $1 - qP$ 以相同的趋势下降 (图 5), PSII 的实际光化学效率 (Φ_{PSII}) 和 PSII 反应中心光能捕获效率 (F_v'/F_m') 也随之下降 (图 5), 这一事实表明 Pb 胁迫导致玉米 PSI 功能减弱后, 阻止了电子从 PSII 向从 PSI 的传递, 增加了 Q_A 的还原程度, 进一步加重了 PSII 的光抑制。随着 Pb 胁迫的加重, PSII 有活性反应中心数目 (RC/CSO) 不断减少 (表 3) 以及 OEC 伤害不断加重 (图 4) 的事实都进一步证明了随着 Pb 胁迫的加重, PSII 的光抑制程度不断加重。

综上所述, Pb 胁迫通过抑制 Rubisco 活性限制了光合作用, 导致激发能增加; Pb 胁迫通过抑制叶绿体中活性氧清除关键酶的活性, 以及增加活性氧的产生导致 PSI 的活性下降, 进而加剧了对 PSII 的供体侧和受体侧的伤害, 最终造成对整个光合机构的伤害, 严重地抑制玉米生长。

References:

- [1] Shen Z G, Li X D, Wang C C, *et al.* Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. *J Environ Qual*, 2002, 31: 1893 – 1900.
- [2] Liu X C, Xiao L T, Liao B H, *et al.* Effects of lead stress on antioxidative enzyme activities and isoenzymes in cucumber seedlings. *Chin J Appl Ecol*, 2006, 17(2): 300 – 304.
- [3] Wang Y, Xin S G, Ma L J, *et al.* Cu and Pb absorption and tolerance of *Agrostis stolonifera* and *Festuca arundinacea*. *Chin J Appl Ecol*, 2007, 18(3): 625 – 630.
- [4] Burzyński M, Klobus G. Changes of photosynthetic parameters in cucumber leaves under Cu, Cd, and Pb stress. *Photosynthetica*, 2004, 42(4): 505 – 510.
- [5] Kosobrukhov A, Knyazeva I, Mudrik V. Plantago major plants responses to increase content of lead in soil: Growth and photosynthesis. *Plant Growth Regulation*, 2004, 42: 145 – 151.
- [6] Jiang C D, Gao H Y, Zou Q. Characteristics of photosynthetic apparatus in Mn-starved leaves. *Photosynthetica*, 2002, 40(2): 209 – 213.
- [7] Verhoeven A S, Adams W W, Demmig-Adams B, *et al.* Xanthophyll cycle pigment localization and dynamics during exposure to low temperature and light stress in *Vinca major*. *Plant Physiol*, 1999, 120: 727 – 737.
- [8] Li P M, Gao H Y, Strasser R J. Application of the chlorophyll fluorescence induction dynamics in photosynthesis study. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2005, 31(6): 559 – 566.
- [9] Schansker G, Srivastava A, Govindjee, *et al.* Characterization of the 820-nm transmission signal paralleling the chlorophyll a fluorescence rise (OJIP) in pea leaves. *Functional Plant Biology*, 2003, 30: 785 – 796.
- [10] Strasser R J, Srivastava A, Govindjee. Polyphasic chlorophyll a fluorescence transients in plants and cyanobacteria. *Photochem Photobio*, 1995,

61: 32—42.

- [11] Krause G H, Weis E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annu Rev Plant Biol*, 1991, 42: 313—349.
- [12] van Kooten O, Snel J F H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynth Res*, 1990, 25: 147—150.
- [13] Genty B, Briantais J M, Baker N R. The relationship between the quenching of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys Acta*, 1989, 990: 87—92.
- [14] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol*, 1977, 59: 309—314.
- [15] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol*, 1981, 22: 867—880.
- [16] Appenroth K J, Stöckel J, Srivastava A, *et al.* Multiple effects of chromate on the photosynthetic apparatus of *Spirodela polyrhiza* as probed by OJIP chlorophyll a fluorescence. *Environmental Pollution*, 2001, 115: 49—64.
- [17] Wen X G, Qiu N W, Lu Q T, *et al.* Enhanced thermotolerance of photosystem II in salt-adapted plants of the halophyte *Artemisia anethifolia*. *Planta*, 2002, 220: 486—497.
- [18] Farquhar G D, Sharkey T D. Stomatal conductance and photosynthesis. *Ann Rev Plant Physiol*, 1982: 317—345.
- [19] Xu D Q. Photosynthetic efficiency. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2002.
- [20] Van Assche F, Clijsters H. Effects of metal on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environ*, 1990, 13: 198—206.
- [21] Jiang C D, Jiang G M, Wang X, *et al.* Enhanced photosystem 2 thermostability during leaf growth of elm (*Ulmus pumila*) seedlings. *Photosynthetica*, 2006, 44(3): 411—418.
- [22] Strasser B J. Donor side capacity of photosystem II probed by chlorophyll a fluorescence transient. *Photosynth Res*, 1997, 52: 147—155.
- [23] Rashid A, Camm E L, Ekramoddoullah K M. Molecular mechanism of action of Pb^{2+} and Zn^{2+} on water oxidizing complex of photosystem II. *FEBS Lett*, 1994, 350: 296—298.
- [24] Yordanov I, Velikova V. Photoinhibition of Photosystem I. *Bulg J Plant Physiol*, 2000, 26: 70—92.
- [25] Öquist G, Hurry V M, Huner N P A. The temperature dependence of the redox state of Q_A and susceptibility of photosynthesis to photoinhibition. *Plant Physiol Biochem*, 1993, 32: 683—691.

参考文献:

- [2] 刘素纯, 萧浪涛, 廖柏寒, 等. 铅胁迫对黄瓜幼苗抗氧化酶及同工酶的影响. *应用生态学报*, 2006, 17(2): 300~304.
- [3] 王艳, 辛士刚, 马莲菊, 等. 剪股颖和高羊茅对铜、铅吸收及耐受性. *应用生态学报*, 2007, 18(3): 625~630.
- [8] 李鹏民, 高辉远, Strasser R J. 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用. *植物生理与分子生物学学报*, 2005, 31(6): 559~566.
- [19] 许大全. 光合作用效率. 上海: 上海科学技术出版社, 2002.