

五节芒不同种群对 Cd 污染胁迫的光合生理响应

秦建桥^{1,2}, 夏北成^{1,*}, 赵鹏¹

(1. 中山大学环境科学与工程学院, 广州 510275; 2. 广东省环境科学研究院, 广州 510045)

摘要:通过盆栽模拟试验,以分别来自粤北大宝山矿区和惠州博罗非矿区的两个五节芒种群为试验材料,比较研究了两个种群在 Cd 胁迫下的气体交换参数、叶绿素荧光特性、光合色素含量和叶绿体超微结构变化的差异。结果表明:(1)Cd 胁迫下五节芒两种群叶片净光合速率(P_n)、蒸腾速率(E)、气孔导度(G_s)、胞间二氧化碳浓度(C_i)、叶绿素含量(Chl)都有不同幅度的下降;叶绿体超微结构遭到破坏。矿区种群随 Cd 胁迫程度的加深,净光合速率下降较慢,叶绿体的外形及基粒结构受到的影响较小。(2)轻度 Cd 胁迫下气孔限制是五节芒非矿区种群 P_n 降低的主要因素,中度和重度 Cd 胁迫下非气孔限制是 P_n 降低的主要因素。(3)Cd 胁迫下五节芒两种群 PS II 反应中心最大光化学效率(F_v/F_m)、PS II 潜在活性(F_v/F_o)、PS II 有效光化学效率 F_v'/F_m' 均有所下降。总体上矿区种群降幅较小,PS II 利用光能的能力及 PS II 的潜在活性均较强。PS II 光化学猝灭系数(qP)、非光化学猝灭系数(NPQ)的变化表现为 Cd 胁迫下两种群 qP 值降低、 NPQ 值升高,总体上抗性强的矿区种群 qP 降低的幅度低且 NPQ 升高幅度大。随着 Cd 胁迫浓度增加,矿区种群实际光化学反应效率($\Phi PS II$)和电子传递速率(ETR)变化幅度不大,而非矿区种群显著下降,表明矿区种群 PS II 反应中心电子传递活性受到的影响小,光合机构的损伤程度低。研究表明,五节芒矿区种群对重金属 Cd 有较强的耐受能力,适合作为金属矿区植被恢复建设的禾本科先锋物种。

关键词: Cd 污染;五节芒;气体交换参数;叶绿素荧光;叶绿体超微结构

Photosynthetic physiological response of two *Miscanthus floridulus* populations to Cd stress

QIN Jianqiao^{1,2}, XIA Beicheng^{1,*}, ZHAO Peng¹

1 School of Environmental Science and Engineering, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, China

2 Guangdong Provincial Academy of Environmental Science, Guangzhou 510045, China

Abstract: The gas exchange, chlorophyll fluorescence parameter, Chlorophyll (chl) contents and chloroplast ultrastructure of two *Miscanthus floridulus* populations, one population from Boluo an uncontaminated site, and another population from Dabaoshan a mine site, were studied under pot-cultivation experiments treated with heavy metal Cd in green house. The results showed that, (1) Under Cd stresses, the net photosynthetic rate (P_n), transpiration rate (Tr), stomatal conductance and chlorophyll content decreased at different extents, and chloroplast ultrastructure was damaged in the leaves of both populations. Compared to the non-mine population, the net photosynthetic rate of the mine population decreased more slowly, and chloroplast shape and grana structure were less affected. (2) Stomatal restriction was the main factor for the P_n 's decrease in the leaves of the non-mine population under light Cd stress, while the non-stomatal restriction was the main factor for P_n 's decrease in the leaves of the non-mine population under middle and high Cd stresses. (3) Measurement of fluorescence of PS II Reaction Center indicated F_v/F_m , F_v'/F_m' and F_v/F_o to decrease in the both populations under Cd stress. However, F_v/F_m and F_v/F_o showed a smaller decrease, but the capability to utilize light and the potential to activate PS II of the mine population remained higher than that of the non-mine population. Quenching (qP) of chlorophyll fluorescence decreased and Non-photochemical Quenching (NPQ) of chlorophyll fluorescence increased for the both populations under Cd stress. Generally, qP decreased less and NPQ increased more for the mine population than that for the

基金项目:广东省自然科学基金团队资助项目(06202438);中山大学 985 工程环境污染控制与修复技术创新平台资助项目

收稿日期:2008-10-28; 修订日期:2008-12-08

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xiabch@mail.sysu.edu.cn

non-mine population. Electronic transfer rate (*ETR*) and PS II actual fluorescence efficiency (Φ PS II) of the mine population changed slightly under Cd stress. These results indicated that when under Cd stress, the electron transport activity and photosynthetic apparatus were damaged less in the mine population with high resistance than in the non-mine population with low resistance. Therefore, the *Miscanthus floridulus* populations from Dabaoshan could be a pioneer species for restoration and rehabilitation of vegetation in a mining area.

Key Words: cadmium contamination; *Miscanthus floridulus*; gas exchange parameter; chlorophyll fluorescence; chloroplast ultrastructure

五节芒 (*Miscanthus floridulus*) 是禾本科 (Gramineae) 芒属多年生草本植物, 主要分布于我国的亚热带地区, 为高大的多年生 C_4 植物, 株高约 2—4m。根系发达, 一般入土深度在 1m 以上, 根茎横走于地表下 10cm 左右, 且长而发达, 可构成地下根系-根茎立体网络系统, 亦可形成地上草丛, 分蘖数可达 100; 寿命通常为 18—20a, 最长可达 25a; 种子千粒重 250—1000mg^[1-3]。五节芒侵袭、生长、繁殖、竞争和生态适应能力强, 常常成为山地、丘陵、滩涂、林缘等草本群落的优势成分。能够截流雨水、涵养水源、防止表土流失和滑坡, 因而具有很高的水土保持价值^[3]。

五节芒与重金属关系的研究已有一些报道。韦朝阳等对湖南石门雄黄矿区调查研究, 发现五节芒能在矿区废弃地形成优势种群, 并对 As 有较高的富集能力, 在高 As 污染区不同砷梯度上五节芒地上茎叶部分 As 含量随土壤 As 含量升高而呈对数曲线增加^[4]; 国内一些学者对广西刁江流域和安徽有色金属矿区一些植物的调查研究表明, 五节芒对锰、镍、砷和锌均具有较强的吸收能力^[5]; 孙健等对湖南郴州铅锌矿区土壤和植物重金属污染进行了调查, 发现五节芒对铅和锌具有较强的吸收与转运能力^[6]。李勤奋等研究发现, 五节芒对 Cu、Zn、Pb、Cd 这 4 种重金属都有很强的耐性, 对 4 种重金属的积累量顺序是 $Cd < Cu < Pb = Zn$ ^[7]。从这些结果分析, 五节芒是一种多重金属耐性植物^[8]。

土壤或沉积物中的重金属污染可以构成一个选择性的促进植物进化的动力, 环境污染给植物带来了新的生存环境, 在这种情况下, 一些植物种群经历了一个被选择和种群重建过程, 此时的种群在生理生化特性和遗传特征等方面已发生了很大的改变, 产生了渐变群、生态型^[9]。由于长期在污染环境下生存, 金属矿区的五节芒可能已经发生了与污染环境相适应的抗性进化^[7], 形成抗性生态型。研究抗性生态型和敏感生态型的生理生态差异是揭示植物抗性机理, 使重金属污染的植物修复技术得到广泛应用的一条重要途径^[10-11]。对于不同生态型植物对重金属胁迫抗性机制的差异, 可能是在遗传机制、酶系统的作用、对重金属的避性、对重金属的细胞区域化和螯合解毒等方面的差异产生的, 目前还没有一致的结论^[12]。本文通过土培实验, 对分别来源于广东省韶关市大宝山(矿区)和广东省惠州市博罗县(非矿区)的五节芒 2 个种群在 Cd 胁迫下的光合生理生态响应进行比较研究, 以期通过污染区和非污染区五节芒种群对 Cd 污染的生理生态反应的差异, 进一步探究植物对重金属抗性的生态适应机制, 为合理进行重金属矿区废弃地的植物修复或植被恢复提供光合生理生态方面的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为五节芒植株幼苗。于 3 月初采集其当年萌发的新苗。矿区种群五节芒采自广东韶关大宝山矿区(经纬度: 24°33'36.6"N, 113°43'14.0"E), 非矿区种群五节芒采自广东惠州博罗县丘陵山地(经纬度: 23°08'57.8"N, 114°21'10.0"E), 都属于同一亚热带季风气候区。带土幼苗采集后带回温室, 用自来水将植株根系洗净, 备用。

1.2 试验土壤

供试土壤采自广东韶关大宝山附近新江镇蓑衣坑五节芒草地(经纬度: 24°29'56.1"N; 113°49'19.6"E),

将风干、过2mm筛的土壤装入塑料盆中,每盆1.2kg。基肥标准:N 100mg kg⁻¹干土,以H₂NCONH₂加入;P 80mg kg⁻¹和K 100 mg kg⁻¹,以KH₂PO₄加入。混匀,备用。植物样品采集点和供试土壤基本化学性质及重金属含量见表1:

表1 五节芒两个种群样本采集点土壤及盆栽试验土壤基本化学性质

Table 1 Some chemical properties of the local soils supporting the two natural populations of *M. floridulus* and soil samples tested

| 采集点土壤 Soil sample point | 有机质 Organic C/ (mg·kg ⁻¹) | 有效P Available P/ (mg·kg ⁻¹) | 碱解N Available N/ (mg·kg ⁻¹) | 重金属含量 Heavy metal contents/(mg·kg ⁻¹) | | | |
|----------------------------|---|---|---|--|----------------|----------------|-------------|
| | | | | Zn | Pb | Cu | Cd |
| 大宝山 Dabaoshan | 14.7 ± 0.9b | 32.2 ± 2.0b | 30.2 ± 1.9b | 1768.7 ± 91.1a | 1253.3 ± 71.3a | 1701.3 ± 77.5a | 9.1 ± 0.9a |
| 博罗 Boluo | 13.8 ± 0.9b | 26.6 ± 1.8b | 28.4 ± 2.7b | 135.2 ± 13.1b | 242.6 ± 44.1b | 48.4 ± 9.5b | 1.1 ± 0.2b |
| 供试土壤 Soil samples tested | 36.2 ± 1.1a | 60.5 ± 9.9a | 61.5 ± 10.9a | 60.5 ± 9.9b | 35.2 ± 7.2c | 6.3 ± 1.7b | 0.13 ± 0.1b |

表中数据为平均值 ± 标准差(n=3),同一栏中的不同字母表示差异显著(根据SSR检验,P<0.05),下同

1.3 试验设计

Cd胁迫处理水平为:CK(对照),10、20、40、80 mg·kg⁻¹和160 mg·kg⁻¹,Cd以CdCl₂·2.5H₂O形式加入,土壤处理后,拌匀,稳定两周后移植五节芒幼苗。按照矿区种群和非矿区种群的植株分开,选取重量和高度一致的植株,随机分配到每个浓度处理中,每个种群每个处理栽种3盆,每盆2株。移植后,用称重法补充水分,保持土壤含水量为田间持水量的60%—70%。Cd胁迫处理60d后测定有关生理指标。

1.4 气体交换参数测定

净光合速率(*Pn*)、蒸腾速率(*Tr*)、气孔导度(*Gs*)、胞间CO₂浓度(*Ci*)等的测定采用美国LI-COR生产的LI-6400型便携式光合作用测量仪测定。测定时,通过Li-6400CO₂钢瓶,控制CO₂浓度在380μmol·mol⁻¹,温度27℃,相对湿度60%,光合有效辐射(*PAR*)控制在600 μmol m⁻²s⁻¹,测定各处理植株倒数第3片完全展开的叶片,每处理3株,取平均值。气孔限制值(*Ls*)和叶片瞬时水分利用效率(*WUE*)由公式计算,即 $Ls = 1 - Ci/Ca^{[13]}$ (*Ca*为大气CO₂浓度); $WUE = Pn/Tr^{[14]}$ 。

1.5 叶绿素荧光参数测定。

采用便携式脉冲调制叶绿素荧光仪(PAM-2000, Walz, Germany)测定叶绿素荧光诱导动力学参数。参照Ralph^[15]的方法,将叶片暗适应30 min,测定初始荧光(*F₀*)、最大荧光(*F_m*)、稳态荧光(*F_s*)和最大荧光(*F_m'*)、最小荧光(*F₀'*);同时测定光化学荧光猝灭系数(*qP*)、非光化学猝灭系数(*NPQ*)。根据以上数据计算:可变荧光 $Fv(Fv = Fm - Fo)$ 、PS II最大光化学效率(Fv/Fm)、PS II潜在活性(Fv/F_0)、PS II光能捕获效率(Fv'/Fm')、PS II有效光化学量子产量($\Phi_{PS II} = (Fm' - Fs) / Fm'$)和电子传递速率 $ETR(ETR = \Phi_{PS II} \times PAR \times 0.5 \times 0.84)^{[16]}$ 。

1.6 光合色素含量的测定

取与测定光合作用相同位置和相同成熟度的叶片,采用浸提法^[17]用752N型紫外分光光度计测定,每种处理测定3株,重复3次。

1.7 叶绿体超微结构的观察

用双面刀片取植株同一叶位叶片的同一部位,洗净,切成1—2mm³大小的样块,置于2.5%戊二醛和1%锇酸双重固定,丙酮系列脱水,Epon812浸透包埋,LKB超薄切片机钻石刀切片,切片经醋酸双氧铀-柠檬酸铅双重染色^[18],于JEM-100CX II型透射电镜下观察叶片叶绿体超微结构并拍照。

1.8 统计分析

数据统计分析和绘图采用Microsoft Excel和SPSS16.0软件结合进行,采用邓肯多重比较分析各平均数间差异的显著性(SSR检验,P<0.05)。

2 结果与分析

2.1 光合作用各项指标的变化

2.1.1 Cd 对五节芒叶片净光合速率(P_n)和蒸腾速率(Tr)的影响

光合速率是反映光合作用强弱的最重要指标,光合速率大,表明植物光合作用的水平高,反之亦然。从图 1A 可以看出,矿区种群和非矿区种群叶片的净光合速率有明显的差异:来自矿区(大宝山)的种群在不同浓度的 Cd 胁迫下叶片净光合速率受到的影响较小,而非矿区(博罗)种群则随处理浓度的增加而明显降低。具体表现为,随着 Cd 胁迫浓度的增加,两种群叶片 P_n 值都下降,在 40、80 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 160 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 胁迫下,矿区种群和非矿区种群 P_n 值分别为对照的 81.05%、74.13%、64.11%和 50.91%、42.92%、27.60%,显然,矿区种群在较高 Cd 处理下净光合速率下降幅度相对较小,非矿区种群下降显著,尤其是 160 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 处理,矿区种群的净光合速率是非矿区种群的 2.20 倍。通过回归分析,对于非矿区种群 $P_n = -0.034x + 7.56$ (x 为 Cd 的浓度, $R^2 = 0.68$, $P < 0.05$)、矿区种群 $P_n = -0.021x + 9.15$ (x 为 Cd 的浓度, $R^2 = 0.82$, $P < 0.05$),表明重金属 Cd 对五节芒非矿区种群叶片 P_n 影响较大。

蒸腾作用是植物吸收水分和转运水分的主要动力,能维持植物各部分的水分饱和,保持细胞组织的形态,促进无机盐类在植物体内的分布,而且能将植物在光合作用和氧化代谢中产生的多余热能散出^[19]。蒸腾速率的变化如图 1B 所示。随着 Cd 胁迫程度的加重,两种群都有较大幅度的下降,但不同处理间 Tr 值下降趋势不同。在轻度 Cd 胁迫下(10、20 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),与对照相比,非矿区种群 Tr 值已显著下降,而矿区种群 Tr 值下降不显著;中度和重度 Cd 胁迫下(80、160 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),非矿区种群 Tr 值显著下降为对照的 46.05%和 33.55%,矿区种群 Tr 值下降为对照的 53.75%和 48.55%。总的说来,在不同 Cd 浓度胁迫下,矿区种群的蒸腾速率明显高于非矿区种群。

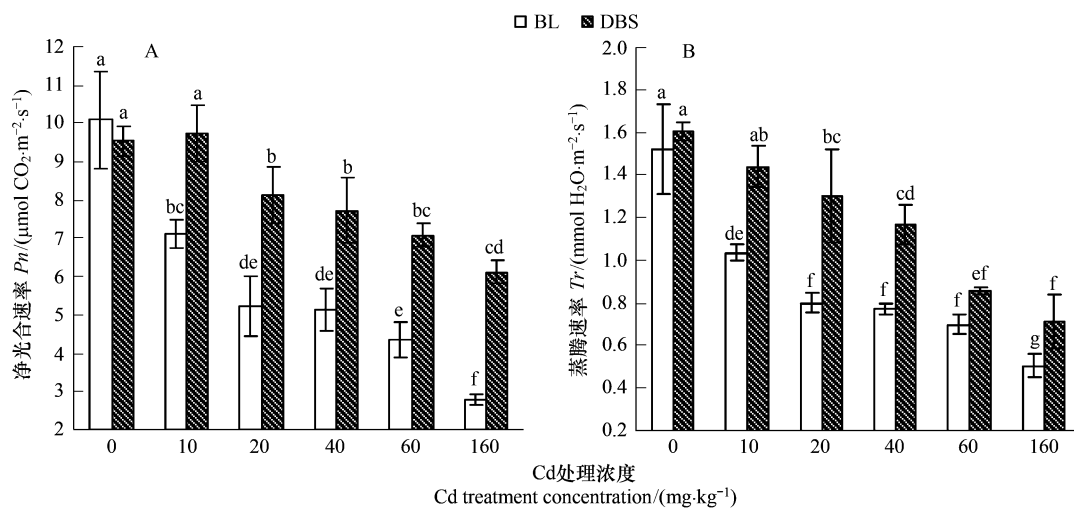


图 1 Cd 胁迫下的五节芒 2 个种群叶片的净光合速率和蒸腾速率

Fig. 1 Net photosynthetic rate (P_n) and transpiration rate (Tr) of two *Miscanthus floridulus* populations under different Cd treatment

BL: 博罗, 非矿区; DBS: 大宝山, 矿区; 下同, 图中误差线为标准差 SD; 字母为邓肯多重比较结果, 字母不同者表示差异显著, $P < 0.05$; 下同

2.1.2 Cd 对五节芒叶片气孔导度(G_s)和胞间二氧化碳浓度(C_i)的影响

Cd 对五节芒 2 个种群叶片气孔导度的影响如图 2A。随 Cd 处理浓度的增加两种群 G_s 均呈下降趋势,中度和重度(80 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 160 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) Cd 胁迫下非矿区种群分别为对照的 41.51%和 32.50%;矿区种群分别为对照的 58.65%和 50.21%,表明非矿区种群下降幅度大于矿区种群。

由图 2B 可以看出,在不同浓度 Cd 的处理下,矿区种群和非矿区种群胞间二氧化碳浓度表现出不同的变化趋势:非矿区种群随处理浓度的增加而降低,在 80 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 160 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 胁迫下, C_i 值显著降低,分别为对照的 57.14%和 53.65%;而矿区种群的 C_i 值在低浓度(10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 20 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)处理时显著升高($P <$

0.05), 中间浓度和高浓度处理有一定下降, 在 Cd 浓度为 $160\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时 C_i 值为对照的 72.28%。表明 Cd 胁迫对非矿区种群 C_i 的影响程度远远大于矿区种群。

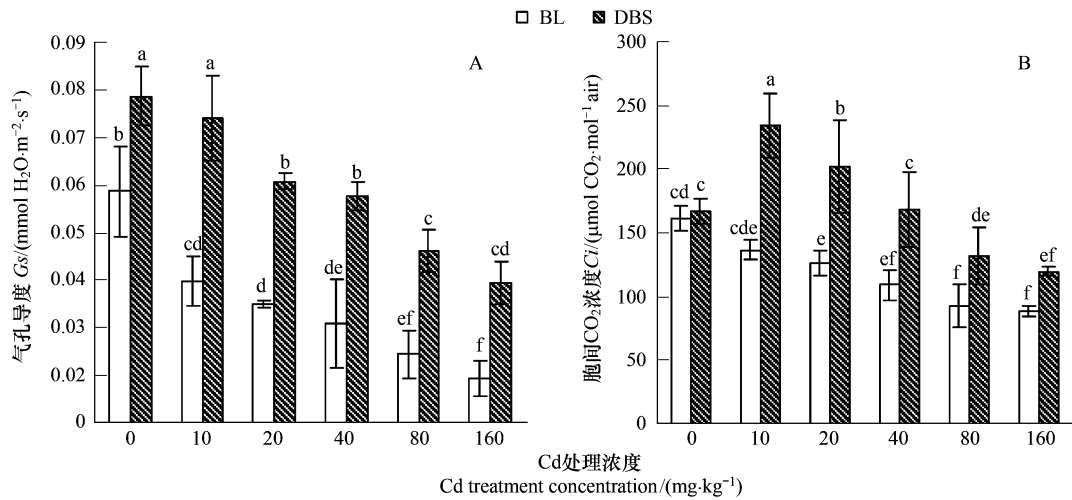


图2 Cd胁迫下的五节芒2个种群叶片的气孔导度和胞间二氧化碳浓度

Fig. 2 Stomatal conductance (G_s) and intercellular CO_2 concentration (C_i) of two *Miscanthus floridulus* populations under different Cd treatment

2.1.3 Cd对五节芒叶片水分利用效率(WUE)和气孔限制值(L_s)的影响

水分利用效率的大小直接由蒸腾速率和净光合速率来决定。从图3A可以看出, 在对照和低浓度Cd ($10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $20\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)处理时, 水分利用效率非矿区种群与矿区种群差异不显著($P > 0.05$), 而在高浓度($80\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $160\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)处理时, 则是矿区种群显著高于非矿区种群($P < 0.05$)。矿区和非矿区种群的变化趋势也不同, 非矿区种群在低浓度处理水分利用效率升高, 随处理浓度的加大而急剧下降, 在 $160\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 处理时达到最低; 矿区种群水分利用效率随处理水平的增大而提高, 在 $160\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时达到最高水平, 与对照差异显著($P < 0.05$), 为对照的150.83%。

气孔限制值 L_s 因胞间 CO_2 和大气 CO_2 浓度的变化而发生改变。非矿区种群气孔限制值随Cd处理浓度的增加而明显增大(图3B), 而矿区种群在低浓度胁迫时下降, 在高浓度($80\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $160\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)处理时才

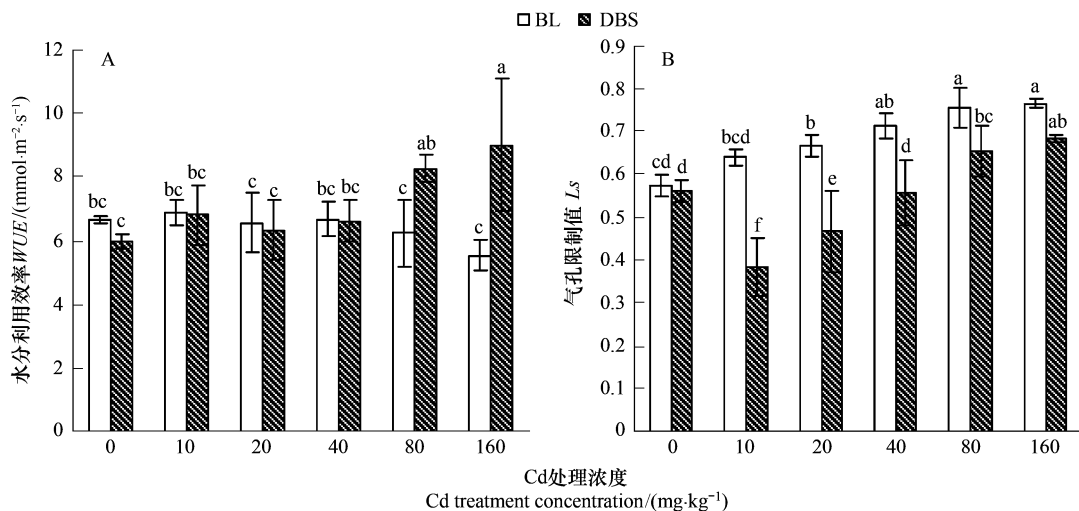


图3 Cd胁迫下的五节芒2个种群叶片的水分利用效率和气孔限制值

Fig. 3 Using efficiency of water (WUE) and stomatal limitation (L_s) in two *Miscanthus floridulus* populations under different Cd treatment

有明显的增大。显然,在 Cd 胁迫下,非矿区种群的气孔限制值明显大于矿区种群。方差分析表明,两种种群在 Cd 高浓度胁迫下 L_s 与对照间差异显著 ($P < 0.05$)。

2.2 叶绿素荧光参数的变化

2.2.1 Cd 对五节芒叶片 F_v/F_m 、 F_v/F_o 和 F_v'/F_m' 的影响

F_v/F_m 反映的是 PS II 的最大光化学效率, F_v/F_o 则反映了 PS II 的潜在活性, F_v'/F_m' 反映的是 PS II 有效光化学效率,它们都是表明光化学反应状况的重要参数^[20]。

结果表明,随着 Cd 胁迫浓度的增大, F_v/F_m 、 F_v/F_o 和 F_v'/F_m' 均降低(如图 4),但五节芒两种群下降的幅度不同,与对照相比,在 Cd 重度胁迫下 ($160\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 两种群 F_v/F_m 、 F_v/F_o 和 F_v'/F_m' 下降的幅度矿区种群分别为:3.75%、10.05%、8.18%;非矿区种群分别为:7.56%、23.31%、28.12%。矿区种群下降幅度明显小于非矿区种群,表明其叶绿素荧光受 Cd 胁迫影响的程度有差异。Cd 胁迫下矿区种群和非矿区种群的净光合速率与 F_v/F_m 呈显著正相关,相关系数分别达到了 0.951 和 0.965。Cd 胁迫使五节芒非矿区种群 PS II 原初光能转化效率降低的程度较大,PS II 潜在活性中心受损较严重。

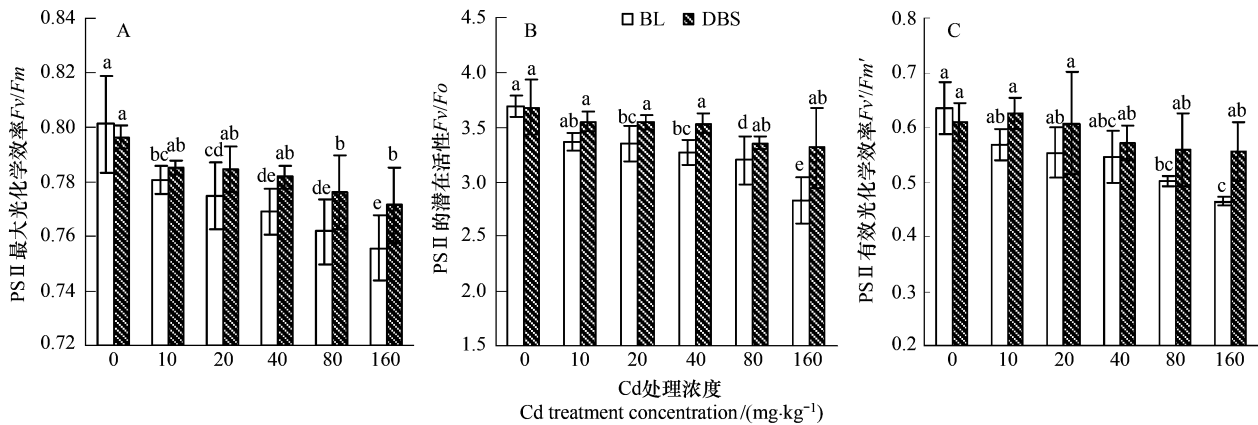


图 4 Cd 胁迫下的五节芒 2 个种群 PS II 最大光化学效率 F_v/F_m 、PS II 的潜在活性 F_v/F_o 与有效光化学效率 F_v'/F_m'

Fig. 4 Effects of different treatments on the PS II maximal photochemical efficiency F_v/F_m , the ratio of variable fluorescence to initial fluorescence F_v/F_o and the PS II effective photochemical efficiency F_v'/F_m' of two *Miscanthus floridulus* populations under different Cd treatment

2.2.2 Cd 对五节芒叶片的 qP 、 NPQ 的影响

光化学猝灭系数 qP 值的大小反映的是 PS II 原初电子受体 QA 的氧化还原状态和 PS II 反应中心的开放程度,其值越大,说明 PS II 具有高的电子传递活性^[21]。由图 5A 可以看出,Cd 胁迫下五节芒两种群 qP 值总体呈下降趋势。轻度胁迫下 ($10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $20\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),与对照相比,两种群 qP 下降幅度很小 ($P > 0.05$);随着 Cd 胁迫浓度的加大,两种群 qP 值均有较大幅度的降低,在 Cd 浓度为 $160\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时两种群 qP 值下降的幅度分别为:矿区种群 (14.49%),非矿区种群 (31.08%),非矿区种群降低的幅度相对较大,说明 Cd 胁迫下五节芒非矿区种群叶片 PS II 反应中心电子传递活性受到的影响比较大。

非光化学猝灭系数 NPQ 反映了叶片吸收的光能以热耗散的形式散失的程度^[22]。热耗散可以防御光抑制带来的破坏,是植物保护 PS II 免受伤害的重要机制。本试验结果表明,Cd 胁迫下五节芒两种群 NPQ 值均升高,与对照相比,在 Cd 胁迫下 (40 、 $80\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $160\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 两种群 NPQ 上升的幅度矿区种群分别为:11.11%、12.50%、18.05%;非矿区种群分别为:2.74%、4.11%、6.85%。矿区种群 NPQ 值增加的幅度高于非矿区种群(图 5B),表明相对于抗性弱的非矿区种群,抗性强的矿区种群在 Cd 胁迫时 PS II 反应中心的开放程度高,电子传递与热耗散能力均较强。

2.2.3 Cd 对五节芒叶片 $\Phi\text{PS II}$ 和 ETR 的影响

$\Phi\text{PS II}$ 和 ETR 反映了 PS II 反应中心在环境胁迫中有部分关闭情况下的实际光化学反应效率和电子传递

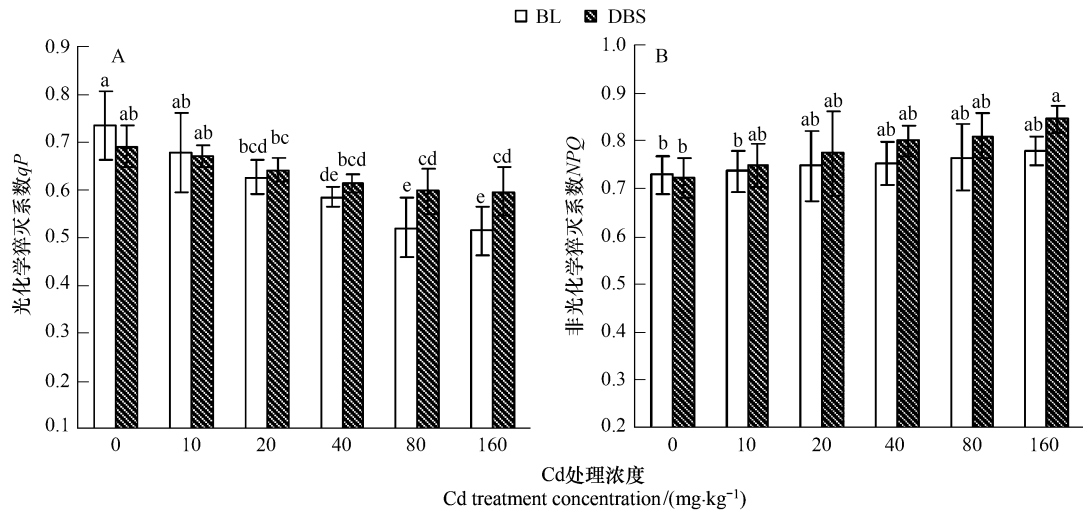


图5 Cd胁迫下的五节芒2个种群光化学猝灭系数 qP 、非光化学猝灭系数 NPQ

Fig. 5 The Photochemical quench (qP), and non-photochemical quench (NPQ) of two *Miscanthus floridulus* populations under different Cd treatment

速率^[23]。图6A、图6B表明:随着Cd胁迫浓度的加强,五节芒两种群 $\Phi PS II$ 、 ETR 均下降,但两种群下降的幅度不同,与对照相比,在Cd浓度(40、80mg·kg⁻¹和160mg·kg⁻¹)胁迫下,矿区种群 $\Phi PS II$ 和 ETR 分别下降18.11%、22.10%、24.05%和15.44%、17.99%、20.05%;非矿区种群 $\Phi PS II$ 和 ETR 分别下降30.77%、40.38%、51.92%和22.19%、30.86%、47.99%。表明矿区种群 $\Phi PS II$ 和 ETR 下降的幅度远小于非矿区种群。方差分析表明,在Cd较高浓度胁迫(80mg·kg⁻¹和160mg·kg⁻¹)下,矿区种群 $\Phi PS II$ 和 ETR 值与其他处理间差异不显著($P > 0.05$),而非矿区种群 $\Phi PS II$ 和 ETR 值则与其他处理间差异显著($P < 0.05$)。

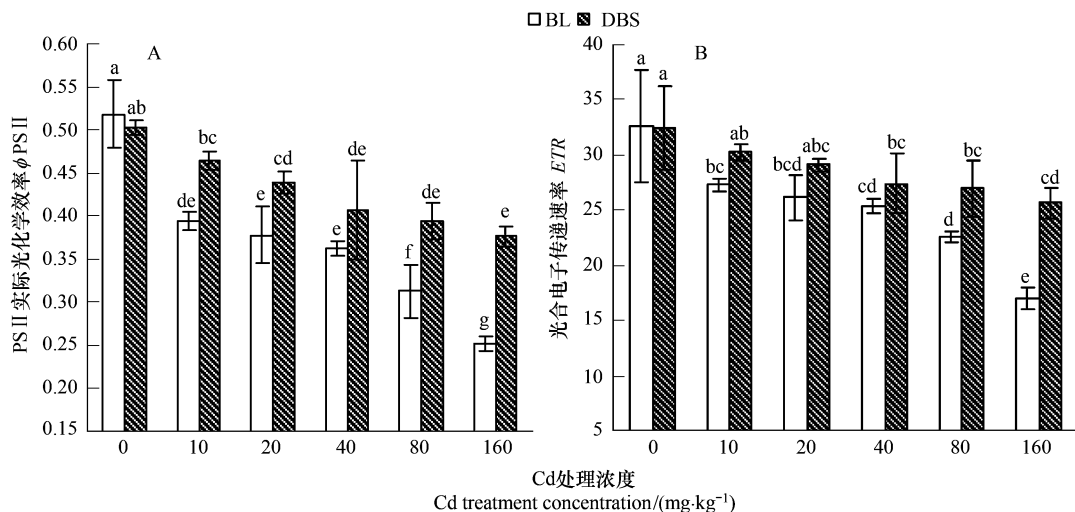


图6 Cd胁迫下的五节芒2个种群PS II实际光化学效率和光合电子传递速率

Fig. 6 The PS II actual photochemical efficiency and the acyclic electron transfer rate of two *Miscanthus floridulus* populations under different Cd treatment

2.3 Cd对五节芒叶片光合色素含量的影响

光合色素的含量将影响叶绿素对光能的吸收、传递以及在PS II、PS I之间的分配和转换合成ATP与NADPH的量^[23],从而影响光合作用。在逆境环境下,植物感知胁迫作用后,通常表现出光合作用下降,光合色素含量降低^[24]。如表2所示,Cd对五节芒叶片光合色素含量的影响因Cd浓度和种群的不同而异。矿区

种群在 Cd 低浓度($10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $20\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)胁迫时,其 Chla、Chlb、总 Chl 的含量和类胡萝卜素含量比对照都有所增加;而非矿区种群随着 Cd 浓度的升高,Chla、Chlb、总 Chl 的含量和类胡萝卜素迅速降低,并且各处理的变化趋势基本一致。两种群的 Chla/b 均随 Cd 浓度增加而减小。在 Cd 高浓度 $80\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $160\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 胁迫时,矿区种群的 Chla、Chlb、总 Chl 含量明显高于非矿区种群,差异显著($P < 0.05$)。

表 2 Cd 胁迫下五节芒叶片光合色素含量(平均值 \pm 标准差)

Table 2 Chlorophyll contents (mean \pm SD) in *Miscanthus floridulus* leaves under different Cd treatment

| 种群 Population | Cd 处理浓度 Cd treatment /($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) | 叶绿素 a Chla content /($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) | 叶绿素 b Chlb content /($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) | 叶绿素 a/b Chl a/b /($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) | 总叶绿素 Total chl content /($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) | 类胡萝卜素 Car content /($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) |
|----------------------------------|--|---|---|--|---|--|
| 博罗种群 Boluo population | 0 | $1.32 \pm 0.011\text{a}$ | $0.76 \pm 0.049\text{a}$ | $1.73 \pm 0.156\text{d}$ | $2.08 \pm 0.053\text{a}$ | $0.42 \pm 0.004\text{a}$ |
| | 10 | $1.26 \pm 0.013\text{ab}$ | $0.69 \pm 0.057\text{a}$ | $1.82 \pm 0.090\text{cd}$ | $1.95 \pm 0.093\text{c}$ | $0.40 \pm 0.006\text{a}$ |
| | 20 | $1.24 \pm 0.033\text{b}$ | $0.53 \pm 0.103\text{b}$ | $2.34 \pm 0.472\text{bcd}$ | $1.77 \pm 0.232\text{b}$ | $0.38 \pm 0.028\text{b}$ |
| | 40 | $1.12 \pm 0.015\text{c}$ | $0.44 \pm 0.040\text{b}$ | $2.54 \pm 0.181\text{bc}$ | $1.57 \pm 0.088\text{c}$ | $0.38 \pm 0.023\text{b}$ |
| | 80 | $1.01 \pm 0.072\text{d}$ | $0.30 \pm 0.082\text{c}$ | $3.14 \pm 0.523\text{a}$ | $1.31 \pm 0.263\text{d}$ | $0.33 \pm 0.024\text{c}$ |
| | 160 | $0.77 \pm 0.018\text{e}$ | $0.26 \pm 0.007\text{c}$ | $3.25 \pm 0.663\text{ab}$ | $1.09 \pm 0.253\text{e}$ | $0.30 \pm 0.035\text{c}$ |
| 大宝山种群 Dabaoshan population | 0 | $1.27 \pm 0.027\text{a}$ | $0.70 \pm 0.009\text{a}$ | $1.78 \pm 0.319\text{c}$ | $1.98 \pm 0.127\text{a}$ | $0.38 \pm 0.016\text{ab}$ |
| | 10 | $1.30 \pm 0.012\text{a}$ | $0.73 \pm 0.003\text{a}$ | $1.81 \pm 0.061\text{c}$ | $2.06 \pm 0.034\text{a}$ | $0.40 \pm 0.005\text{a}$ |
| | 20 | $1.29 \pm 0.010\text{a}$ | $0.76 \pm 0.017\text{a}$ | $1.85 \pm 0.063\text{c}$ | $2.12 \pm 0.030\text{a}$ | $0.39 \pm 0.006\text{ab}$ |
| | 40 | $1.21 \pm 0.021\text{b}$ | $0.58 \pm 0.043\text{b}$ | $2.10 \pm 0.179\text{bc}$ | $1.95 \pm 0.103\text{b}$ | $0.37 \pm 0.012\text{ab}$ |
| | 80 | $1.19 \pm 0.012\text{b}$ | $0.52 \pm 0.081\text{bc}$ | $2.28 \pm 0.603\text{ab}$ | $1.82 \pm 0.287\text{c}$ | $0.35 \pm 0.045\text{ab}$ |
| | 160 | $1.16 \pm 0.009\text{c}$ | $0.46 \pm 0.006\text{c}$ | $2.52 \pm 0.072\text{a}$ | $1.75 \pm 0.050\text{d}$ | $0.35 \pm 0.007\text{b}$ |

2.4 Cd 对五节芒叶片叶绿体超微结构的影响

叶绿体是光合反应的中心,在光合作用进行时不可避免地要产生超氧化物自由基等活性氧,在正常情况下,叶绿体内活性氧的产生和清除处于动态平衡状态,叶绿体内的 SOD 可将超氧阴离子自由基歧化为 H_2O_2 ,此后 H_2O_2 的清除主要是通过 AsA-GSH 循环途径^[25-26]。重金属胁迫造成了叶绿体中 H_2O_2 的积累, H_2O_2 是强氧化剂,可通过 Haber-Weiss 反应产生攻击力更强的羟基自由基,启动膜脂过氧化,破坏膜脂和膜蛋白,从而引起膜结构和细胞超微结构的变化^[27]。

对五节芒不同种群叶片叶绿体超微结构的观察发现,正常条件下,两种群的叶绿体为椭圆形,基粒和基质片层清晰(图 6A,图 6E)。然而,随 Cd 胁迫水平的增加,二者的叶绿体形态发生了明显的变化,特别是非矿区种群的叶绿体。两种群叶绿体超微结构在轻度 Cd($10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)胁迫下,变化不很明显(图 6B,图 6F)。而在中度 Cd($40\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)胁迫下,非矿区种群叶绿体形状趋于圆形,大部分基粒片层成为模糊的解离状态,从空间位置上看叶绿体已经远离细胞壁发生了位移(即发生了质壁分离)(图 6C),这必然导致光合机构的光合能力下降;但矿区种群叶绿体的外形及基粒结构受到的影响明显轻一些,基粒片层基本上保持垛叠状态(图 6G)。在重度 Cd($160\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)胁迫下,非矿区种群基粒已经十分模糊,基粒片层难于分辨,且部分叶绿体被膜的局部产生变形、破裂(图 6D);矿区种群叶绿体片层系统肿胀,片层系统排列方向发生改变、产生扭曲,基粒模糊。由图 6 可看出,在中度及重度 Cd 胁迫下,非矿区种群叶绿体的形态和结构变化受到的影响比矿区种群要大得多。

3 讨论

(1)土壤和植物中 3—8 mg/kg 及 9.5 mg/kg Cd 就会对植物产生毒害作用^[28]。重金属毒害植物的一个重要特征就是引起叶绿素减少、蛋白质含量降低,从而使植物失绿,产生毒害现象^[29]。叶绿素作为植物光合作用的主要色素,在光能吸收、传递、转换中起着重要作用,其含量的高低与植物光合作用水平的强弱密切相关^[30]。Cd 是一种强亲巯基(—SH)的重金属元素,Cd 处理引起叶绿素含量降低,很可能是 Cd 进入五节芒叶片叶绿体后,与其蛋白质上的巯基结合或取代其中的 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Mg^{2+} ,破坏了叶绿体的结构和功能^[31]。

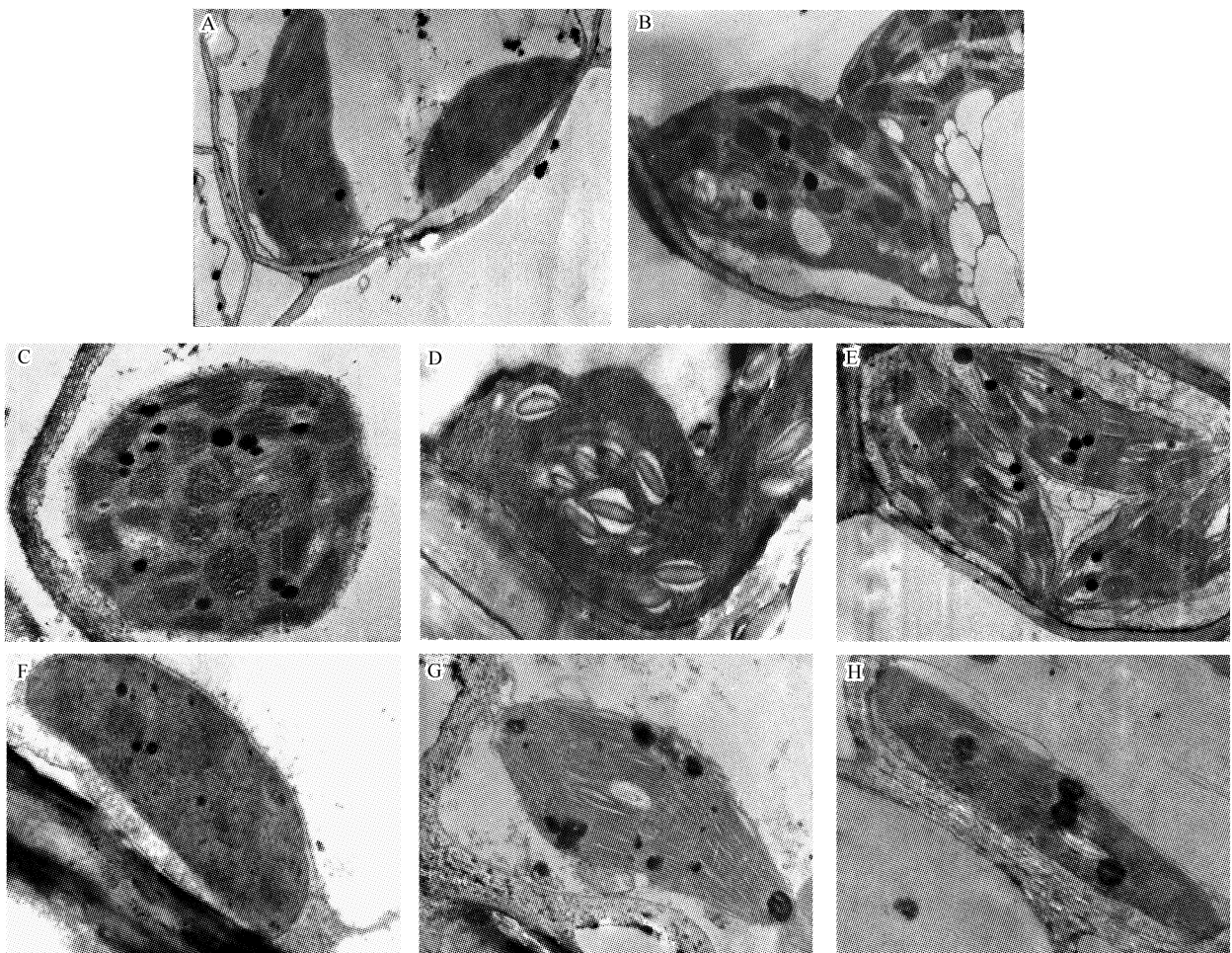


图7 Cd胁迫对五节芒两个种群叶片叶绿体超微结构的影响

Fig. 7 Effects of different Cd treatment on chloroplast ultrastructure of two *Miscanthus floridulus* populations

A—D: 非矿区种群叶片叶绿体; A: 对照叶绿体, $\times 8000$; B: $10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 处理后, 叶绿体的类囊体大部分肿胀, $\times 8000$; C: $40\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 处理后, 叶绿体变圆形, $\times 10000$; D: $160\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 处理后, 叶绿体内的基粒间片层大部分断裂, 基粒模糊, 类囊体严重肿胀, $\times 10000$; E—H: 矿区种群叶片叶绿体; E: 对照叶绿体, $\times 8000$; F: $10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 处理后, 叶绿体基本保持原有形状与结构, $\times 14000$; G: $40\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 处理后, 叶绿体的类囊体轻微肿胀, $\times 14000$; H: $160\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 处理后, 叶绿体伸长, 部分基粒轻微解离, $\times 4000$

Stobart A K^[29] 等认为, 叶绿素含量降低的原因: 一是 Cd 抑制原叶绿素酸酯还原酶; 二是影响了氨基-r-酮戊酸的合成。在本实验中, Cd 显著降低了五节芒非矿区种群叶片叶绿素的含量, 而矿区种群在 Cd 低浓度 ($10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $20\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 处理时的叶绿素含量有所增加, 在高 Cd ($80\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $160\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 处理时虽然显著下降, 但仍然比非矿区种群的叶绿素含量明显高。这很可能是因为矿区的五节芒种群产生了某些抗性机制从而减少了 Cd 对叶绿素的伤害。

(2) 徐勤松等^[32] 研究认为重金属对叶绿体超微结构的损伤是引起叶绿素含量降低的结构原因。高等植物叶绿体内部有一个复杂的片层系统, 由双层膜组成的扁平小囊垛叠起来, 即构成基粒。在正常的光合作用中, 基粒结构是必不可少的^[31]。本实验透射电镜结果也证明, Cd 胁迫对五节芒非矿区种群叶绿体超微结构产生明显的破坏作用。如叶绿体膨胀, 类囊体片层肿胀, 双层膜破裂、基粒模糊、叶绿体解体等。由此反映出重金属 Cd 对五节芒叶片内的主要光合色素和光合作用细胞器都造成严重的破坏作用, 因此最终必将影响到植物光合作用的有效进行。本实验光合作用测试也表明, 采自大宝山多金属矿区的五节芒种群叶片净光合速率并没有受 Cd 的明显影响, 而采自惠州博罗的非矿区种群净光合速率随处理浓度的增加而显著降低 (图 1)。同时, 我们还发现非矿区种群在对照组中的净光合速率明显高于矿区种群, 而较高处理则是矿区种群明显高

于非矿区种群。矿区种群长期生长于重金属环境中(表 1),可能已经产生了适应性抗性进化,形成了重金属抗性生态型。

(3) Farquhar 等认为, P_n 的降低有气孔限制和非气孔限制两方面因素,当 P_n 和 C_i 变化方向相同,两者同时减小,且 L_s 增大时, P_n 下降主要是由 G_s 引起的,否则 P_n 的下降要归因于叶肉细胞羧化能力的降低^[33]。另外,叶绿体结构与光合作用密切相关,叶绿体基粒数和基粒片层数越多,基粒片层排列越致密,光合能力就越强^[34]。本研究表明,在轻度 Cd 胁迫下五节芒非矿区种群 P_n 下降的同时 C_i 明显降低、 L_s 升高幅度较大,叶绿体超微结构受 Cd 胁迫的影响较小,表明轻度 Cd 胁迫下五节芒非矿区种群 P_n 降低的主要因素是气孔限制,但在中度和重度 Cd 胁迫下,随着 P_n 的进一步降低, C_i 及 L_s 与对照相比变化不大,而叶绿体超微结构被破坏,甚至出现叶绿体膜破裂的现象,表明非矿区种群在中度和重度 Cd 胁迫下 P_n 的降低主要是由叶肉细胞光合活性下降引起的,非气孔限制起着主要作用。而矿区种群只有在中度及重度 Cd 胁迫下 P_n 才有所下降,同时 C_i 下降、 L_s 升高,叶绿体超微结构受轻微影响,表明 Cd 胁迫下五节芒矿区种群 P_n 降低主要是由气孔限制引起的。

(4) 光合作用是植物体内极为重要的代谢过程,而叶片叶绿素荧光与光合作用中各种反应过程密切相关,任何环境因子对光合作用的影响都可通过叶片叶绿素荧光动力学反映出来,因此叶绿素荧光是探测植物光合作用动态变化的理想内在探针^[35]。光合作用中, F_v/F_m 的值常被用来指示环境对植物的胁迫。暗适应后测量的 F_v/F_m 反映了当所有 PS II 反应中心均处于开放态时的量子产量,即 PS II 的潜在最大量子产量^[36]。正常生理状态下, F_v/F_m 是一个比较稳定的值, F_v/F_m 的值通常在 0.8 左右^[37]。在干旱胁迫^[38]、温度胁迫^[39]、盐胁迫^[40]、光胁迫^[41] 中均发现 F_v/F_m 的值随胁迫程度的加重而降低。 F_v/F_m 低于 0.8 指示的光合抑制有可能来自于光保护或者 PS II 反应中心受损^[41],本次实验中,五节芒矿区种群 F_v/F_m 均在 0.8 左右,而且与 Cd 的相关性较低;但五节芒非矿区种群在高 Cd 胁迫下 F_v/F_m 降低到 0.7 左右,这显示 Cd 胁迫对非矿区种群光合作用的影响远大于矿区种群。

综上所述,五节芒矿区种群无论是光合作用、呼吸作用、蒸腾作用和光合生理结构受到 Cd 的损伤较非矿区种群小,反映了其在较大程度上摆脱自然进化历程而快速地对重金属污染环境发生具有抗性的适应分化和微进化,是其长期适应性进化的结果,这为植物在矿区高重金属、水分易流失的高污染环境中的正常生长提供了物质和能量的保证,适合作为金属矿区植被恢复建设的禾本科先锋物种。

References:

- [1] Kao W Y, Tsai T T, Chen W H. A comparative study of *Miscanthus foridulus* (Labill) Warb and *M. Transmorri-sonensis* Hayata: Photosynthetic gas exchange, leaf characteristics and growth in controlled environments. *Annals of Botany*, 1998, 81: 295-299.
- [2] Lew and owski I, Scurlock J M O, Lindvall E, Christou M. The development and current status of perennial rhizomatous grasses as energy crops in the US and Europe. *Biomass and Bioenergy*, 2003, 25: 335-361.
- [3] Zhao N X, Xiao Y F. Plant resources and its exploitation, utilization of the genus *Miscanthus* in Anhui Province. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 1990, 8(4): 374-382.
- [4] Wei C Y, Chen T B. The Ecological and Chemical Characteristics of plants in the areas of high arsenic levels. *Acta Phytocologica Sinica*, 2002, 26(6): 695-700.
- [5] Ren L M, Liu P, Zheng Q N, Zhang X C, Cheng Z X. A survey of heavy metal content of plants growing on the soil polluted by manganese mine in Daxin County, Guangxi. *Subtropical Plant Science*, 2006, 35(3): 5-8.
- [6] Sun J, Tie B Q, Qin P F, Qing S X, Luo R. Investigation of contaminated soil and plants by heavy metals in Pb-Zn mining area. *Journal of Plant Resources & Environment*, 2006, 15(2): 63-67.
- [7] Li Q F, Du W B, Li Z A, Wang Z F, Peng S L. Heavy metals accumulation in mining area's *Miscanthus sinensis* populations and its relationship with soil characters. *Chinese Journal of Ecology*, 2006, 25(3): 255-258.
- [8] Peng K J, Li X D, Luo C L, Shen Z G. Vegetation composition and heavy metal uptake by wild plants at three contaminated sites in Xiangxi area, China. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 2006, 40: 65-76.
- [9] Xie M J, Ke W S, Wang W X, Xiong Z T, Wu M Y, Chen J. MDA accumulation and antioxidation capacity of two *Elsholtzia haichowensis*

- populations under copper stress. Chinese Journal of Ecology, 2005, 24(8): 935-938.
- [10] Ke W S, Xi H A, Yang Y, Wang W X, Chen S W. Analysis on characteristics of phytochemistry of *Elsholtzia haichowensis* Daye Tonglushan copper mine. Acta Ecologica Sinica, 2001, 21(6): 907-912.
- [11] Wen C H, Deng C Q, Chang X X, Wang H B, Wang H X. Differentiation in *Datura stramonium* L. populations exposed to heavy-metal pollution at different durations; RAPD analysis. Acta Ecologica Sinica, 2001, 21(8): 1239-1245.
- [12] Jin X F, Yang X E, Islam E, Liu D, Mahmood Q. Effects of cadmium on ultrastructure and antioxidative defense system in hyperaccumulator and non-hyperaccumulator ecotypes of *Sedum alfredii* Hance. Journal of Hazardous Materials, 2007, 12(64): 1-5.
- [13] Berry J A, Downton W J S. Environmental regulation of photosynthesis//Photosynthesis: Development, carbon metabolism and plant productivity, vol II. New York: Academic Press, 1982: 263-343.
- [14] Fischer R A, Turner N C. Plant productivity in the arid and semiarid zones. Annual Review of Plant Physiology, 1978, 29: 227-317.
- [15] Ralph P J, Schreiber U, Gademann R, Kuhl M, Larkum A W D. Coral photobiology studied with a new imaging pulse amplitude modulated fluorometer. Phycological Research, 2005, (41): 335-342.
- [16] Demmig-Adams B, Adams III W W. Xanthophyll cycle and light stress in nature: uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. Planta, 1996, 198: 460-470.
- [17] Li H S, Sui Q, Zhao S J, Zhang W H. Experimental principle and technology of plant physiology and biochemistry. Beijing: Higher Education Press, 2000: 134-138.
- [18] Reynolds E S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. Journal of Cell Biology, 1963, 17: 208-212.
- [19] Zhou Y M, Han S J, Hu Y L, Zhang H S, Zheng J Q. Effects of elevated CO₂ concentration on photosynthetic parameters of *Pinus koraiensis* needles. Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(1): 423-429.
- [20] Li X W, Chen S L. Effect of shading on photosynthetic characteristics and chlorophyll fluorescence parameters in leaves of *Fritillaria cirrhosa*. Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(7): 3438-3445.
- [21] Fen D L, Liu Yun, Zhong Z C, Yang J, Xie J. Photosynthesis and chlorophyll fluorescence parameters of the reed (*Phragmites communis*) grown in the hydro-fluctuation belt of Three Gorges Reservoir Area. Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(5): 2013-2021.
- [22] Bilger W, Brkman O. Role of the xanthophylls cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in *Hedera canariensis*. Photosynthesis Research, 1990, 25: 173-185.
- [23] Devi S R, Prasad M N V. Copper toxicity in *Ceratophyllum demersum* L. (Coontail), a free floating macrophyte: responses of antioxidant enzymes and antioxidants. Plant Science, 1998, 138: 157-165.
- [24] Lal A, Edwards G E. Analysis of inhibition of photosynthesis underwater stress in the C₄ species *Amaranthus cruentus* and *Zeamays*: electron transport, CO₂ fixation and carboxylation capacity. Australian Journal of Plant Physiology, 1996, 23(4): 403-412.
- [25] Cheeseman J M. Mechanism of salinity tolerance in plants. Plant Physiology, 1988, 87: 547-550.
- [26] Asada K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. Annual Review of Plant Physiology, 1999, 50: 601-639.
- [27] Jiang M Y, Yang W Y, Xu J. Active oxygen damage effect of chlorophyll degradation in rice seedlings under osmotic stress. Acta Botanica Sinica, 1994, 36(4): 289-295.
- [28] Outridge P M, Noller B N. Accumulation of toxic trace elements by freshwater vascular plants. Environmental Toxicology, 1991, 121: 1-63.
- [29] Stobart A K, Griffiths W T, Ameen-Bukhar. The effects of Cd²⁺ on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. Plant Physiology, 1985, 63: 293-298.
- [30] Verma S, Dubey R S. Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. Biologia Plantarum, 2001, 44(1): 117-123.
- [31] Baszynski T, Wajda L, Krol M, Wolinska D, Krupa Z, Tukendorf A. Photosynthetic activities of cadmium-treated tomato plants. Physiologia of Plantarum, 1980, 48: 365-370.
- [32] Xu Q S, Shi G X, Zhou Y M, Wu G R, Wang X. Distribution and toxicity of cadmium in *Hydrilla verticillata* (L. F.) Royle. Acta Biologicae Experimentalis Sinica, 2004, 37(6): 461-468.
- [33] Farquhar G D, Sharkey T D. Stomatal conductance and photosynthesis. Annual Review of Plant Physiology, 1982, 33(3): 317-345.
- [34] Zhang J, Li T L. Effects of daytime sub-high temperature on photosynthesis and chloroplast ultrastructure of tomato leaves in green house. Acta Horticulturae Sinica, 2005, 32(4): 614-619.
- [35] Ralph P J, Gademann R. Rapid light curves: A powerful tool to assess photosynthetic activity. Aquatic Botany, 2005, 82: 222-237.
- [36] Da-Matta F M, Maestri M, Mosquim P R, Barros R S. Photosynthesis in coffee (*Coffea arabica* and *C. canephora*) as affected by winter and summer conditions. Plant Science 1997, 128: 43-50.
- [37] Govindjee. Sixty-three years since Kautsky: Chlorophyll a fluorescence. Plant Physiology, 1995, 22: 131-160.

- [38] Karavatas S, Manetas Y. Seasonal patterns of photosystem II photochemical efficiency in evergreen sclerophylls and drought semi-deciduous shrubs under Mediterranean field conditions. *Photosynthetica*, 1999, 36: 41-49.
- [39] Wang K Y, Kellomaki S, Zha T. Modifications in photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence in 20-yearold pine trees after a four-year exposure to carbon dioxide and temperature elevation. *Photosynthetica*, 2003, 41: 167-175.
- [40] Lima J D, Mosquim P R, Damatta F M. Leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters in *Phaseolus vulgaris* as affected by nitrogen and phosphorus deficiency. *Photosynthetica*, 1999, 37: 113-121.
- [41] Peng C L, Gimmere A M. Contrasting changes of photosystem II efficiency in *Arabidopsis xanthophyllmutants* at room or low temperature under high irradiance stress. *Photosynthetica*, 2003, 41: 233-239.

参考文献:

- [3] 赵南先, 萧运峰. 安徽省的芒属植物资源及其开发利用. *武汉植物研究*, 1990, 8(4): 374-382.
- [4] 韦朝阳, 陈同斌. 高钾区植物的生态与化学特征. *植物生态学报*, 2002, 26(6): 695-700.
- [5] 任立民, 刘鹏, 郑启恩, 张新成, 程正新. 广西大新县锰矿区植物重金属污染的调查研究. *亚热带植物科学*, 2006, 35(3): 5-8.
- [6] 孙健, 铁柏清, 秦普丰, 青山勋, 罗荣. 铅锌矿区土壤和植物重金属污染调查分析. *植物资源与环境学报*, 2006, 15(2): 63-67.
- [7] 李勤奋, 杜卫兵, 李志安, 王峥峰, 彭少麟. 金属矿区芒草种群对重金属的积累及其与土壤特性的关系. *生态学杂志*, 2006, 25(3): 255-258.
- [9] 谢明吉, 柯文山, 王万贤, 熊治廷, 吴明煜, 陈建军. 铜胁迫下两种海州香薷的膜脂过氧化水平及抗氧化能力比较. *生态学杂志*, 2005, 24(8): 935-938.
- [10] 柯文山, 席红安, 杨毅, 王万贤, 陈世俭. 大冶铜绿山矿区海州香薷 (*Elsholtzia haichowensis*) 植物地球化学特征分析. *生态学报*, 2001, 21(6): 907-912.
- [11] 文传浩, 段昌群, 常学秀, 王宏斌, 王焕校. 重金属污染下曼陀罗种群分化的 RAPD 分析. *生态学报*, 2001, 21(8): 1239-1245.
- [17] 李合生, 孙群, 赵世杰, 章文华. *植物生理生化实验原理和技术*. 北京: 高等教育出版社, 2000: 134-138.
- [19] 周玉梅, 韩士杰, 胡艳玲, 张海森, 郑俊强. 高浓度 CO₂ 对红松 (*Pinus koraiensis*) 针叶光合生理参数的影响. *生态学报*, 2008, 28(1): 423-429.
- [20] 李西文, 陈士林. 遮荫下高原濒危药用植物川贝母 (*Fritillaria cirrhosa*) 光合作用和叶绿素荧光特征. *生态学报*, 2008, 28(7): 3438-3445.
- [21] 冯大兰, 刘芸, 钟章成, 杨娟, 谢君. 三峡库区消落带芦苇 (*Phragmites communis* (reed)) 的光合生理响应和叶绿素荧光特性. *生态学报*, 2008, 28(5): 2013-2021.
- [27] 蒋明义, 杨文英, 徐江. 渗透胁迫下水稻幼苗中叶绿体降解的活性氧损伤作用. *植物学报*, 1994, 36(4): 289-295.
- [32] 徐勤松, 施国新, 周耀明, 吴国荣, 王学. 镉在黑藻叶细胞中的亚显微定位分布及毒害效应分析. *实验生物学报*, 2004, 37(6): 461-468.
- [34] 张洁, 李天来. 日光温室亚高温对番茄光合作用及叶绿体超微结构的影响. *园艺学报*, 2005, 32(4): 614-619.