#### DOI: 10.5846/stxb201810282325

王仁杰,朱凡,梁惠子,黄鑫浩,王旭旭,楚晶晶.重金属 Mn 对苦楝叶片光系统性能的影响.生态学报,2020,40(6):2019-2027. Wang R J, Zhu F, Liang H Z, Huang X H, Wang X X, Chu J J.Effects of Manganese (Mn) on the performances of photosystems I and II in *Melia azedarach* young plant.Acta Ecologica Sinica,2020,40(6):2019-2027.

# 重金属 Mn 对苦楝叶片光系统性能的影响

王仁杰<sup>1</sup>,朱 凡<sup>1,2,\*</sup>,梁惠子<sup>1</sup>,黄鑫浩<sup>2</sup>,王旭旭<sup>1</sup>,楚晶晶<sup>2</sup>

1 中南林业科技大学生命科学与技术学院,长沙 410004

2 南方林业生态应用技术国家工程实验室,长沙 410004

**摘要:**重金属锰严重抑制植物的光合作用,影响 Mn 污染地区植被恢复。为给 Mn 污染地区植被恢复提供合适的树种,以木本植物苦楝为研究对象,分别将 0、10 g 和 30 g 的 MnCl<sub>2</sub>(CK、L1 和 L2)溶于纯水中配成溶液掺入盆栽土壤,通过快速叶绿素荧光诱导动力学曲线、820 nm 光吸收曲线以及光合气体交换参数测定技术,研究重金属 Mn 对苦楝叶片光系统 I(PSI)、光系统 II(PSI)、光系统 II(PSI)) (PSI)性能及其协调性的影响。结果表明, Mn 胁迫下,苦楝叶片 PSII性能指数(PI<sub>ABS</sub>)表现为 L2<L1<CK,且差异性显著(P<0.05); K 点( $W_k$ )和 J 点( $V_j$ )均显著大于 CK;电子从  $Q_A^-$ 传递到 PS I 受体侧的效率( $\Psi_{(Ro)}$ )和捕获的激子将电子传递到电子链中  $Q_A$ 下游  $Q_B$ 等电子受体的概率( $\Psi_{(Eo)}$ )随着时间的推移呈现出先上升后下降的趋势; PSI 性能( $\Delta I/I_0$ )显著低于 CK (P<0.05), PS I 与 PS II 的协调性( $\Phi_{(PSLPSII)}$ )在 L2 水平下差异性显著 (P<0.05);净光合速率(Pn)、气孔限制值(Ls)和 RuBP 羧化效率均降低, 胞间 CO<sub>2</sub>浓度(*Ci*)增高。以上结果表明重金属 Mn 显著影响了苦楝叶片 PS II 和 PSI 性能,使苦楝光合能力下降。 关键词:光系统;光合电子传递链;快速叶绿素荧光; 820 nm 光吸收; 苦楝; Mn

# Effects of Manganese (Mn) on the performances of photosystems I and II in *Melia azedarach* young plant

WANG Renjie<sup>1</sup>, ZHU Fan<sup>1,2,\*</sup>, LIANG Huizi<sup>1</sup>, HUANG Xinhao<sup>2</sup>, WANG Xuxu<sup>1</sup>, CHU Jingjing<sup>2</sup>

1 Central-South University of Forestry & Technology, Changsha 410004, China

2 State Key Laboratory of Ecological Applied technology in Forest Area of South China, Changsha 410004, China

Abstract: Environmental pollution by heavy metals is becoming a serious problem globally. Excess Manganese (Mn) can inhibit the photosynthetic process, which consequently results in a reduction of phytoremediation of soils polluted by heavy metals. In this study, *Melia azedarach* which distributed widely in south China was employed as experimental material. MnCl<sub>2</sub>(analytically pure) (0, 10 and 30 g) were mixed with pure water first and the mixture solution was divided into 10 equal parts to add to the pots every day, respectively. They were designated as CK, L1, L2, respectively. The toxicity of Mn on photosystems behavior in leaves of *Melia azedarach* was investigated using in vivo chlorophyll fluorescence transients and light absorbance at 820 nm. The results showed that the excessive Mn levels induced the significant difference of the performance index (PI<sub>ABS</sub>). The relative variable fluorescence intensity at the K-step ( $W_k$ ) and relative variable fluorescence at the J-step ( $V_j$ ) in Mn-treated leaves significantly higher than that of the CK. The probability of an electron moving from  $Q_A^-$  to reduce end electron acceptors at the PS I acceptor ( $\Psi_{(R\omega)}$ ) and probability that a trapped exciton moved an electron into the electron transport chain beyond  $Q_A(\Psi_{(E\omega)})$  showed an initial increase and then decrease trend. The PSI performance ( $\Delta I/I_0$ ) and the coordination between PS II and PS I ( $\Phi_{(PSI/PSIII)}$ ) decreased in Mn-treated leaves. Also,

收稿日期:2018-10-28; 网络出版日期:2019-12-17

\* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: forestranger33@ hotmail.com

http://www.ecologica.cn

**基金项目:**湖南省重点研发计划项目(2017NK2171);国家林业局"948"项目(2014-4-62);国家林业局软科学研究项目(2013-R09);湖南省林业 厅科技项目

excessive Mn significantly decreased the net photosynthetic rate and RuBP carboxylation efficiency, but increased intercellular  $CO_2$  concentration. The results indicated that excessive Mn impaired the performances of photosystems (PSI and PSII), which caused the decrease of the net photosynthetic rate and the rate of  $CO_2$  assimilation.

Key Words: photosystems; the photosynthetic electron transfer chain; chlorophyll a fluorescence transient; 820 nm light absorbance; *Melia azedarach*; Mn

Mn 是植物生长所必需的微量元素,参与植物光合电子传递链的氧化还原过程和光系统 II (PS II)中水的 光解,并且对维持叶绿体的正常结构具有重要作用<sup>[1]</sup>,但是过量的 Mn 对植物具有毒害作用,抑制植物生 长<sup>[2]</sup>。特别是 Mn 胁迫对光合系统有显著影响。重金属 Mn 胁迫会引起叶绿体结构改变,使叶绿素含量降低, 从而捕获和传递到光系统反应中心的光能减少,抑制光系统的原初反应,导致光合电子传递链受阻,净光合速 率降低<sup>[3-5]</sup>。在高 Mn 胁迫下,大量积累的活性氧不能及时清除,会导致光合系统 PS II 反应中心 D1 蛋白的降 解<sup>[6]</sup>,蛋白组和转录组学研究证明,Mn 胁迫下,与 CO<sub>2</sub>同化和光合作用相关的叶绿体核蛋白表达下调<sup>[7]</sup>。湖 南 Mn 矿区土壤可溶性 Mn 含量过高对当地土壤已造成严重污染。湖南湘潭 Mn 矿矿渣废弃地土壤可溶性 Mn 含量最高达湖南省背景值的 66 倍<sup>[8]</sup>;湘南 5 个 Mn 矿恢复区污染严重,尾砂坝下游旱地也受到不同程度 污染<sup>[9]</sup>。重金属严重污染下,原有的森林群落被破坏,随后在植被自然演替恢复过程中,形成以多年生草本 植物为主的植被群落<sup>[10-11]</sup>。因此,研究 Mn 对木本植物的胁迫机制对 Mn 污染区的森林群落重建和适应苗木 的筛选具有重要意义。

光合作用是植物生长发育的基础,光系统 I(PSI)和光系统 I(PSI) 是光合氧化还原的重要位点。快速 叶绿素荧光诱导动力学和 820 nm 光吸收曲线技术能够快速、灵敏、无损伤地反映两个光系统对光能的吸收、 传递及耗散等生理状况<sup>[12-14]</sup>。近年来,上述技术被较好地应用在逆境条件下植物光合机构变化的相关研究 中。如利用快速叶绿素荧光技术研究发现 Fe<sup>2+</sup>对玉米(*Zea mays*)和大豆(*Glycine max*)PS II 的电子供体侧和 受体侧产生抑制作用<sup>[15]</sup>;Cd 对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)的毒性效应主要表现为抑制 PS II 的反应中 心和电子传递,对 PS II 供体侧的电子供体和受体侧的电子受体都产生了毒害,进而抑制了光合作用<sup>[16]</sup>;Al 对 柑橘类两种植物叶片的 PS II 的性能有影响<sup>[17]</sup>;Li 等<sup>[5]</sup>发现过量 Mn 会抑制雪柚叶片从 PS II 供体侧到 PSI 受 体侧的整个电子传递,并伴随着 PS II 反应中心通量发生变化。此外,利用该技术发现木本植物西府海棠 (*Malus micromalus*)的叶扩展过程中 PS II 和 PSI 光合活性增加,且 PS II 活性增加快于 PSI<sup>[18]</sup>,低温胁迫首先 导致杏树(*Armeniaca vulgaris*)和黄瓜(*Cucumis sativus*) PSI 发生光抑制<sup>[19-20]</sup>,盐胁迫导致金银花(*Lonicera japonica*)PSI 氧化受阻,受抑制程度大于 PS II<sup>[21]</sup>。但是重金属胁迫下植物叶片 PS II 和 PSI 的活性变化的研 究还很少。

苦楝(Melia azedarach)是湖南常见的抗逆性强的乡土木本植物<sup>[22]</sup>。目前,国内外对苦楝的研究主要包括 驱虫<sup>[23]</sup>、抗病毒<sup>[24-25]</sup>、抗盐<sup>[26]</sup>、抗旱<sup>[27]</sup>、抗寒<sup>[28]</sup>等。因此,本文选择苦楝作为研究对象,通过快速叶绿素荧光 诱导动力学、820 nm 光吸收曲线和光合气体交换参数技术,分析 Mn 胁迫下,苦楝光系统(PS II 和 PSI)的性 能、Mn 在光合传递链的作用位点以及苦楝的光合能力,为深入研究苦楝光合机构对重金属 Mn 胁迫的生理适 应性,也为 Mn 污染地区的生态治理提供理论支撑。

# 1 材料与方法

# 1.1 试验材料

本试验采用室内单株盆栽方法,于 2016 年 8 月至 9 月在湖南长沙中南林业科技大学温室进行。供试土 壤采自于中南林业科技大学校园内 10—20 cm 土,无重金属污染历史,土壤 pH 为 5.05,土壤全 C、全 N 及 Mn 的含量分别为 12.18 g/kg、0.36 g/kg 和 463.53 mg/kg。土壤过 5 mm×5 mm 的筛,去除石头等杂物后装入塑料 花盆(内径 25.4 cm,高 17.8 cm),每盆装风干土 7 kg。选取苗高、地径和生长状态基本一致的 1 年生苦楝苗 (容器苗)栽植在盆中,每盆栽种 1 株树苗,在温室培养 3 个月,定期浇水松土,以保证供试苗木的生长稳 定性。

# 1.2 试验设计

根据重金属污染场地土壤修复标准和湖南 Mn 矿污染现状<sup>[8-9]</sup>,设置 Mn 的 2 个污染浓度水平,即 10 g 和 30 g 的 MnCl<sub>2</sub>(分析纯)溶于纯水中配成 L1 和 L2 污染水平。具体步骤是将 MnCl<sub>2</sub>分多次溶于纯水中掺入到 盆栽土中,每次掺入时以植株为中心围绕土壤四周均匀掺入,避免溶液直接接触到植物任何部位,确保溶液不 渗出。经分析测定,土壤 L1、L2 水平下 Mn 含量分别为 1220.58 mg/kg、3743.27 mg/kg,根据土壤重金属污染 等级划分标准<sup>[8]</sup>,分别为中度污染和重度污染。同时设置对照 (CK),即掺入等量的纯水。

Mn 污染处理结束后第 7 天开始第 1 次的测定,此后每隔 7 天测定 1 次,共测定 5 次;每种处理下 3 个重 复,每个重复选取 5 片完全展开叶进行相关测定。试验期间,温室光照为自然光,最大光照强度处在 900— 1100 μmol m<sup>-3</sup>s<sup>-1</sup>范围内,温度保持在 25—27℃,所有供试苗木用纯水浇灌,并适当松土,避免土壤板结。 **1.3** 测定方法

叶绿素荧光诱导动力学曲线和 820 nm 光吸收曲线的测定:应用连续激发式荧光仪测定时间在 2016 年 8 月至 9 月之间,7:00—10:00,叶片先暗适应 60 min,然后测定。参照 Strasser 等<sup>[29]</sup>测定方法并稍作修改,用 5000 μmol m<sup>-3</sup> s<sup>-1</sup>红光(波长 625 nm)诱导,同步测量快速叶绿素荧光诱导动力学曲线和 820 nm 的光吸收曲 线,荧光信号记录从 10 μs 开始,至 2 s 结束,共记录 128 个数据。相关参数的运算及生理意义参见李鹏民 等<sup>[30]</sup>。本文使用参数基本如下:(1)从 OJIP 快速叶绿素荧光动力学曲线上直接获得参数导出的参数,包括:  $F_0:$ 暗适应后照光 20 μs 时的荧光强度, $F_k$ :暗适应后照光 300 μs 时的荧光强度, $F_j = F_{2ms}$ :暗适应后照光 2 ms 时的荧光强度, $V_i$ :I点的可变荧光  $F_i$ 占振幅  $F_0 - F_p$ 的比例, $V_j$ :J点的可变荧光  $F_j$ 占振幅  $F_0 - F_p$ 的比例,  $\Psi_{(Eo)}$ :捕获的激子将电子传递到电子链中  $Q_A$ 下游的电子受体的概率, $\delta_{(Ro)}$ :电子从  $Q_B$ 传递到 PSI 受体侧的效 率,PI<sub>ABS</sub>:以吸收光能为基础的性能指数;(2)从 OJIP 快速叶绿素荧光动力学曲线上计算的参数,包括: $W_k =$  $(F_k - F_0)/(F_j - F_0)$ :K点的可变荧光  $F_k$ 占振幅  $F_0 - F_j$ 的比例, $\Psi_{(Ro)} = 1 - V_i$ :电子从  $Q_A^{-}$  传递到 PSI 受体侧的效 率;(3)从 820 nm 光吸收曲线计算的参数包括: $I_0$ :暗适应后照光 0.7 ms 时的荧光强度, $I_{min}$ :暗适应后照光后 最小的荧光强度, $\Delta I/I_0 = (I_0 - I_{min})/I_0$ :820 nm 红光吸收值;(4)从 OJIP 快速叶绿素荧光动力学曲线上和 820 nm 光吸收曲线共同计算获得的参数, $\Phi_{(PS1/PSII)} = (\Delta I/I_0)/\Psi_{(Eo)}$ :PSI 与 PS II 的协调性。

光合气体交换参数和 RuBP 羧化效率的测定:采用 Li-6400 便携式光合测定系统(Li-Cor Inc.,USA),测定 时光强设定为 1000 μmol m<sup>-3</sup> s<sup>-1</sup>, CO<sub>2</sub>浓度为 360、300、250、200、150、100、50 μmol/mol,叶室空气温度控制在 25°C,叶室空气湿度控制在 45%—65%,大气 CO<sub>2</sub>浓度为((360±10) μmol/mol),测定其最大净光合速率 (*Pn*)、胞间 CO<sub>2</sub>浓度(*Ci*)、并计算气孔限制值(*Ls*)和 RuBP 羧化效率<sup>[31]</sup>。

1.4 数据统计分析

试验数据采用 Microsoft Excel 2003 进行计算, SPSS 20.0 进行 ANOVA 单因素方差分析和 Duncan 多重比 较检验,并采用 SigmaPlot 12.0 进行作图。

# 2 结果

2.1 Mn 对苦楝 PSⅡ性能的影响

# 2.1.1 Mn 对苦楝 PSⅡ反应中心的影响

以吸收光能为基础的性能指数(PI<sub>ABS</sub>)主要用于衡量 PS II 整体性能。由图 1 可知,相对于对照来说,两组 Mn 污染水平下,苦楝叶片的 PI<sub>ABS</sub>随着时间的推移都呈现出下降趋势,即 L2<L1<CK;在 L1 污染水平下,PI<sub>ABS</sub> 在前 21 天与对照相比无明显变化,从第 28 天显著下降(P<0.05),在 L2 污染水平下,PI<sub>ABS</sub>在第 7 天与对照相 比无明显变化,从第 14 天开始显著下降(P<0.05),且从 14 天起 L2 污染水平的 PI<sub>ABS</sub>显著小于 L1 污染(P<

0.05),表明两种 Mn 处理都造成苦楝 PSⅡ整体性能下降,且浓度越高,性能下降越早、下降程度越大。 2.1.2 Mn 对 PSⅡ供体侧/受体侧的影响

 $K 点的可变荧光 F_k 占振幅 F_0 - F_j 的比例(W_k)和 J$  $点的可变荧光 F_j 占振幅 F_0 - F_p 的比例(V_j),分别表示$  $PS II 供体侧放氧复合体和受体例 <math>Q_A$ 之后电子传递链的 受损程度,其值越大表明受损伤越严重。由图 2 可知, 相对于对照来说,两组 Mn 污染水平下,苦楝叶片的  $W_k$ 和  $V_j$ 随着时间的推移都呈现出上升趋势,在 L1 污染水 平下, $W_k$ 和  $V_j$ 在前 28 天与对照相比均无明显变化,仅 第 35 天显著上升(P<0.05);在 L2 污染水平下, $W_k$ 从第 7 天起与对照相比出现显著上升(P<0.05), $V_j$ 从第 21 天起与对照相比出现显著上升(P<0.05),总体来说,L2 污染下的  $W_k$ 和  $V_j$ 上升幅度明显大于 L1 污染水平(P<0.05);与 CK 处理相比,L1、L2 污染水平下, $W_k$ 增幅均 在第 35 天最大,增幅分别为 17.51%和 71.36%, $V_j$ 增幅 同样在第 35 天最大,分别为 7.72%,24.67%。表明两种





Fig. 1 Effects of different Mn concentrations on PI<sub>ABS</sub> in *M. azedarach* leaves

CK:对照组 the control; L1: 土壤中 Mn 浓度为 1220.58 mg/kg, the soil contained 1220.58 mg/kg of Mn per pot; L2:土壤中 Mn 浓度为 3743.27 mg/kg, the soil contained 3743.27 mg/kg of Mn per pot;不同 小写字母表示同一天不同处理间差异达 5%显著水平

Mn 污染水平导致苦楝 PS II 供体侧和受体侧均受损,且 L1 污染水平下,受损较小。







#### 2.2 Mn 对苦楝光合电子传递链的影响

由图 3 可知,相对于对照来说,两组 Mn 污染水平下,苦楝叶片的  $\Psi_{(Ro)}$ 、 $\Psi_{(Eo)}$ 随着时间的推移呈现出先上 升后下降的趋势,但  $\delta_{(Ro)}$ 随着时间的推移基本无明显变化,在 L1 污染水平下,与对照相比, $\Psi_{(Ro)}$ 第 7 天显著 上升,第 14 天到 28 天无明显变化,而第 35 天显著下降;与对照相比, $\Psi_{(Eo)}$ 先上升后下降,至第 35 天呈现显著 性差异(P<0.05);与对照相比, $\delta_{(Ro)}$ 在第 7 天显著上升(P<0.05),其他时间点有不同程度上升或下降,但均无 显著性差异。在 L2 污染水平下, $\Psi_{(Ro)}$ 和  $\Psi_{(Eo)}$ 在第 7 天高于对照,且  $\Psi_{(Ro)}$ 差异显著(P<0.05), $\Psi_{(Ro)}$ 和  $\Psi_{(Eo)}$ 第 21 天起显著低于对照(P<0.05), $\delta_{(Ro)}$ 在第 7 天和第 14 天高于对照,第 21 天起低于对照,但差异不显著。 表明 2 种 Mn 处理下,电子从  $Q_{\bar{A}}$ 传递到 PSI 受体侧的效率、电子从  $Q_{\bar{A}}$ 传递到  $Q_{\bar{B}}$ 等中间电子传递体的效率均下 降,但电子从  $Q_{\bar{B}}$ 等中间电子传递体传递到 PSI 受体侧的效率基本不变。



图 3 不同浓度 Mn 对苦楝叶片  $\Psi_{(Ro)}$ 、 $\Psi_{(Eo)}$ 、 $\delta_{(Ro)}$ 的影响 Fig.3 Effects of different Mn concentrations on  $\Psi_{(Ro)}$ ,  $\Psi_{(Eo)}$ ,  $\delta_{(Ro)}$  in M. azedarach leaves

# 2.3 Mn 对苦楝光系统 I 性能的影响

820 nm 光吸收的相对振幅( $\Delta I/I_0$ )作为衡量 *PSI*的最大氧化还原活性,是对 PS I 性能的综合评价<sup>[32]</sup>。由 图 4 可知,相对于对照来说,两组 *Mn* 污染水平下,苦楝叶片的  $\Delta I/I_0$  随着时间的推移呈现出下降的趋势。在 L1 污染水平下, $\Delta I/I_0$  在前 21 天与对照相比无明显变化,从第 28 天显著下降(*P*<0.05);在 L2 污染水平下,  $\Delta I/I_0$  在第 7 天与对照相比显著下降(*P*<0.05),从 28 天起,L2 污染下的  $\Delta I/I_0$  显著低于 L1 污染水平(*P*<0.05),表明两种 *Mn* 处理都造成苦楝  $\Delta I/I_0$  下降,且污染浓度越高,性能下降越早、下降程度越大。

2.4 Mn 对苦楝光系统 I 与光系统 Ⅱ 协调性的影响

 $\Psi_{(E_0)}$ 和  $\Delta I/I_0$  之间的协同关系可以表明两个光系统之间的协调性  $\Phi_{(PSL/PSII)}^{[33]}$ 。由图 5 可知,与对照相 比,在 L1 和 L2 污染水平下,苦楝叶片的  $\Phi_{(PSL/PSII)}$ 在各个时间点均小于对照(CK)。在 L1 污染水平下,  $\Phi_{(PSL/PSII)}$ 从一开始下降,仅第 14 天呈现显著差异性(P<0.05),但随后  $\Phi_{(PSL/PSII)}$ 在逐渐上升,与对照相比无显 著差异性;在 L2 污染水平下, $\Phi_{(PSL/PSII)}$ 除第 21 天外,与对照相比均显著下降(P<0.05),且下降幅度大于 L1 污染水平,差异性显著(P<0.05),表明 L1 污染水平下,两个光系统之间的协调性受到抑制后又逐渐恢复,L2 污染水平下,两个光系统之间的协调性一直处在抑制状态。

2.5 Mn 对苦楝叶片光合气体交换参数及 RuBP 羧化酶活性的影响

由图 6 可知,两组 Mn 污染水平下,净光合作用(Pn)、气孔限制值(Ls)和 RuBP 羧化效率都随着时间的推移呈现出下降的趋势,胞间 CO<sub>2</sub>浓度(Ci)随着时间的推移呈现上升的趋势。相对于对照来说,在 L1 和 L2 污染水平下,净光合作用(Pn)从第 7 天均显著下降(P<0.05),L1 和 L2 污染水平之间从第 21 天呈显著性变化(P<0.05);胞间 CO<sub>2</sub>浓度(Ci)从第 7 天均显著上升(P<0.05),仅在第 21 天时 CK 和 L1 之间差异性不明显。

相对于对照来说,在L1 污染水平下,气孔限制值(Ls)从28 天显著下降(P<0.05),在L2 污染水平下,气孔限制值(Ls)从第7 天显著下降(P<0.05);在L2 污染水平下,RuBP 羧化效率从第7 天显著下降(P<0.05),在L1 污染水平下,RuBP 羧化效率从第14 天显著下降(P<0.05),且CK、L1、L2 之间也从第14 天开始呈现显著性变化(P<0.05)。





Fig. 4 Effects of different Mn concentrations on  $\Delta I/I_0$  in M. azedarach leaves



图 5 不同浓度 Mn 对苦楝叶片  $\Phi_{(PSL/PSII)}$ 的影响

Fig.5 Effects of different Mn concentrations on  $\Phi_{(PSL/PS\,II\,)}$  in *M. azedarach* leaves



图 6 不同浓度 Mn 对苦楝叶片气体交换参数和 RuBP 羧化酶效率的影响

Fig.6 Effects of different Mn concentrations on gas exchange parameters and RuBP carboxylase efficiency in M. azedarach leaves

# 3 讨论

快速叶绿素荧光 OJIP 曲线中 K 点的上升作为 PS II 供体侧(OEC)伤害程度的指标已被广泛接受,并用 W<sub>k</sub>反映 K 点的变化<sup>[34-36]</sup>。K 相的产生是由于放氧复合体从 Mn-复合体上解离,导致 PS II 供体侧流向反应中

心的电子与从反应中心流向 PS II 受体侧的电子不平衡,次级电子供体酪氨酸残基  $Z(Y_2)$  的氧化态( $Z^+$ )不断 积累。因此, $W_k$ 反应了  $Z^+$ 积累量的变化, $W_k$ 的上升表示 PS II 供体侧受伤<sup>[37]</sup>,近期研究还表明, $V_j$ 上升仅反映 PS II 受体侧受伤, $W_k$ 的上升不仅反映 PS II 供体侧受伤,同时也反映 PS II 供体侧受伤程度大于 PS II 受体侧的 受伤程度<sup>[38]</sup>。在本试验中,Mn 胁迫造成 PI<sub>ABS</sub>明显下降, $W_k$ 、 $V_j$ 上升,说明 Mn 胁迫下苦楝叶片 PS II 的整体性 能下降<sup>[39]</sup>,苦楝 PS II 供体侧和受体侧同时受到伤害,特别是  $W_k$ 最大上升幅度大于  $V_j$ ,表明供体侧受伤导致从 PS II 供体侧流向反应中心的电子减少幅度小于 PS II 受体侧受伤导致反应中心流向受体侧的电子减少幅度, 次级电子供体酪氨酸残基  $Z(Y_2)$ 的氧化态( $Z^+$ )仍然不断积累,最终导致 PS II 供体侧受伤程度大于受体侧。

研究表明,重金属会抑制  $Q_A$ 与  $Q_B$ 之间的电子传递<sup>[40]</sup>。本试验中苦楝在 L1、L2 污染水平下  $\Psi_{(Ro)}$ 、 $\Psi_{(Eo)}$ 、  $\delta_{(Ro)}$ 都下降,表明 PS II 受体侧到 PS I 的电子传递受阻,而且  $\delta_{(Ro)}$ 下降不仅反映了  $Q_B$ 等中间电子传递体到 PSI 电子传递效率下降,也表明了电子从  $Q_A^-$ 传递到  $Q_B$ 等中间电子传递体的能力大于  $Q_B$ 等中间电子传递体向 PSI 受体侧传递的能力<sup>[41]</sup>,即  $Q_B$ 等中间电子传递体向 PSI 受体侧的电子传递受阻程度比  $Q_A^-$ 传递到  $Q_B$ 等中间电 子传递体更严重。另外,本试验初期  $\Psi_{(Eo)}$ 、 $\Psi_{(Ro)}$ 、 $\delta_{(Ro)}$ 高于对照,这可能是初期植物叶片中的 Mn 含量小,作 为植物必需的营养元素 Mn 在正常范围内的含量升高,提高了苦楝 PS II 受体侧的性能,对受体侧的电子传递 产生促进作用,这与  $V_j$ 在第7天、14天小于对照和 PS II 整体性能在第7天无明显变化是一致的,随后3个参 数下降低于对照,说明光系统受损。

PSI 活性的明显下降有可能是 PS II 受体侧受损较重无法向 PSI 正常提供电子,抑制了 PSI 的还原,此时, 820 nm 光吸收曲线显示为  $\Delta I/I_0$  增加,也可能是 PSI 本身损伤引起,表现为  $\Delta I/I_0$  显著降低,原因是 PSI 不能 有效推动电子向受体侧传递,抑制了 PSI 的氧化<sup>[21]</sup>。本试验中 PS II 受体侧向 PSI 的电子传递受阻但  $\Delta I/I_0$ 仍然显著降低,说明苦楝 PS I 活性的下降主要是由于 Mn 对 PSI 本身造成损伤引起的,且 Mn 对苦楝 PSI 受抑 制程度高于 PS II,进而造成  $Q_B$ 向 *PSI* 受体侧受阻比  $Q_A^-$ 传递到  $Q_B$ 等中间电子传递体的电子传递受阻严重,与  $\delta_{(R_0)}$ 的变化是一致的。PSI 失活的原因可能是 PSI 受体侧的铁硫中心和叶绿素醌首先发生光破坏,紧接着 P700 被破坏,反应中心 PsaB 的基因产物降解造成的<sup>[42]</sup>。

光系统的协调性下降,会导致更多的过剩激发能或还原态物质的积累,增加活性氧的产生几率,造成光合器官受伤,光合活性下降<sup>[43-44]</sup>。本试验中L1、L2 污染水平下,PS II 和 PSI 之间的协调性都下降。而L1 污染水平下,仅第 14 天协调性显著下降,其他时间未产生显著下降;原因可能是 PS II 受体侧  $Q_A^- 与 Q_B$ 等中间电子传递体之间的电子传递在第 14 天时还未受到 Mn 影响( $\Psi_{(Eo)}$ 未下降),此时,PSI 的活性已降低,导致协调性的显著降低,随后 PS II 受体侧  $Q_A^- 与 Q_B$ 等中间电子传递体之间的电子传递受到抑制( $\Psi_{(Eo)}$ 显著下降),避免了 PSI 过度还原,PS II 和 PSI 之间的协调性恢复;L2 污染水平下,仅第 21 天协调性下降不显著,其他时间均差异显著,说明 L2 污染水平下,光系统已受到损伤。

研究表明,PSII和 PSI 性能降低或 PSII和 PSI 之间电子传递协调性下降,最终都会导致植物光合能力下降,净光合作用降低,不利于植物生长<sup>[45]</sup>,当 PSII和 PSI 性能下降,协调性也降低,就说明光系统遭到严重破坏,光合作用仍会持续降低,最终导致植物死亡<sup>[46]</sup>。在本试验结果还发现,不同 Mn 污染水平下,苦楝净光合作用(Pn)明显下降,RuBP 羧化效率显著下降,而胞间 CO<sub>2</sub>浓度上升,根据 Farquhar 等<sup>[31]</sup>测定气孔限制值 (*Ls*)的方法,当净光合作用(*Pn*)下降,植物叶片胞间 CO<sub>2</sub>(*Ci*)减小,*Ls* 增大时,光合作用下降的主要原因是气 孔限制造成的,而植物叶片胞间 CO<sub>2</sub>(*Ci*)增大,Ls 减小时,光合作用下降的主要原因则是非气孔限制造成的。本试验研究结果表明,Mn 污染胁迫下,苦楝光合作用下降的主要原因是非气孔限制造成的,说明 Mn 污染造 成苦楝叶片 PSII和 PSI 受损,光合能力下降。但是该试验并不能很好阐述受损的机理,只有结合光系统反应 中心的蛋白及其基因编码的表达才能充分说明光系统受损现象。

#### 4 结论

Mn 胁迫下,苦楝叶片光系统 PS II 供体侧和受体侧受损,供体侧受损更严重;光合电子传递链中 Q<sub>B</sub>等中

间电子传递体向 PSI 受体侧的电子传递比 Q<sub>A</sub> 传递到 Q<sub>B</sub>等中间电子传递体之间受阻更严重; PSI 受损程度大 于 PS II; 两个光系统之间协调性受到影响,在 L1 污染水平下 PS II 和 PSI 协调性未明显降低, L2 污染水平下 PS II 和 PSI 协调性显著降低, 最终表现为苦楝叶片净光合速率和 RuBP 羧化效率显著下降, 光合能力明显 降低。

#### 参考文献(References):

- [1] 张玉秀,李林峰,柴团耀,林单,张红梅. 锰对植物毒害及植物耐锰机理研究进展. 植物学报, 2010, 45(4): 506-520.
- [2] Shi Q H, Zhu Z J. Effects of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, element contents and antioxidative system in cucumber. Environmental and Experimental Botany, 2008, 63(1/3): 317-326.
- [3] Kitao M, Lei T T, Koike T. Comparison of photosynthetic responses to manganese toxicity of deciduous broad-leaved trees in northern Japan. Environmental Pollution, 1997, 97(1/2); 113-118.
- [4] Ferroni L, Baldisserotto C, Fasulo M P, Pagnoni A, Pancaldi S. Adaptive modifications of the photosynthetic apparatus in *Euglena gracilis* Klebs exposed to manganese excess. Protoplasma, 2004, 224(3/4): 167-177.
- [5] Li Q, Chen L S, Jiang H X, Tang N, Yang L T, Lin Z H, Li Y, Yang G H. Effects of manganese-excess on CO<sub>2</sub> assimilation, ribulose-1,5bisphosphate carboxylase/oxygenase, carbohydrates and photosynthetic electron transport of leaves, and antioxidant systems of leaves and roots in *Citrus grandis* seedlings. BMC Plant Biology, 2010, 10: 42.
- [6] Schnettger B, Critchley C, Santore U J, Graf M, Krause G H. Relationship between photoinhibition of photosynthesis, D1 protein turnover and chloroplast structure: effects of protein synthesis inhibitors. Plant, Cell & Environment, 1994, 17(1): 55-64.
- [7] Führs H, Hartwig M, Molina L E B, Heintz D, Van Dorsselaer A, Braun H P, Horst W J. Early manganese-toxicity response in *Vigna unguiculata* L.: a proteomic and transcriptomic study. Proteomics, 2008, 8(1): 149-159.
- [8] 方晰,田大伦,谢荣秀.湘潭锰矿矿渣废弃地植被修复前的土壤诊断.生态学报,2006,26(5):1494-1501.
- [9] 高陈玺. 湘南锰矿废弃地优势植物重金属富集能力的研究[D]. 重庆: 重庆工商大学, 2013.
- [10] 李有志,罗佳,张灿明,刘庆,郭丹丹. 湘潭锰矿区植物资源调查及超富集植物筛选. 生态学杂志, 2012, 31(1): 16-22.
- [11] 刘鸿雁, 邢丹, 肖玖军, 刘方. 铅锌矿渣场植被自然演替与基质的交互效应. 应用生态学报, 2010, 21(12): 3217-3224.
- [12] Schansker G, Srivastava A, Govindjee, Strasser R J. Characterization of the 820-nm transmission signal paralleling the chlorophyll a fluorescence rise (OJIP) in pea leaves. Functional Plant Biology, 2003, 30(7): 785-796.
- [13] Goltsev V, Zaharieva I, Chernev P, Strasser R J. Delayed fluorescence in photosynthesis. Photosynthesis Research, 2009, 101(2/3): 217-232.
- [14] Goltsev V, Zaharieva I, Chernev P, Kouzmanova M, Kalaji H M, Yordanov I, Krasteva V, Alexandrov V, Stefanov D, Allakhverdiev S I, Strasser R J. Drought-induced modifications of photosynthetic electron transport in intact leaves: analysis and use of neural networks as a tool for a rapid non-invasive estimation. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics, 2012, 1817(8): 1490-1498.
- [15] Jiang C D, Gao H Y, Zou Q. Changes of donor and acceptor side in photosystem 2 complex induced by iron deficiency in attached soybean and maize leaves. Photosynthetica, 2003, 41(2): 267-271.
- [16] 冉小飞,刘瑞,白芳,施军琼,吴忠兴. 微囊藻生长及光合系统 II 对重金属镉的响应. 水生生物学报, 2015, 39(3): 627-632.
- [17] Guo P, Qi Y P, Cai Y T, Yang T Y, Yang L T, Huang Z R, Chen L S. Aluminum effects on photosynthesis, reactive oxygen species and methylglyoxal detoxification in two *Citrus* species differing in aluminum tolerance. Tree Physiology, 2018, 38(10): 1548-1565.
- [18] Gao J, Li P M, Ma F W, Goltsev V. Photosynthetic performance during leaf expansion in *Malus micromalus* probed by chlorophyll a fluorescence and modulated 820 nm reflection. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2014, 137: 144-150.
- [19] 孙山,张立涛,王家喜,王少敏,高华君,高辉远.低温弱光胁迫对日光温室栽培杏树光系统功能的影响.应用生态学报,2008,19(3): 512-516.
- [20] 张子山,张立涛,高辉远,贾裕娇,部建雯,孟庆伟.不同光强与低温交叉胁迫下黄瓜 PSI 与 PSⅡ 的光抑制研究.中国农业科学,2009, 42(12):4288-4293.
- [21] 颜坤,赵世杰,徐化凌,吴从稳,陈小兵.盐胁迫对不同倍性金银花光合特性的影响.中国农业科学,2015,48(16):3275-3286.
- [22] 苏明洁,廖源林,叶充,蔡仕珍,龙聪颖,邓辉茗. 镉胁迫下苦楝(Melia azedarach L.)幼苗的生长及生理响应. 农业环境科学学报, 2016, 35(11): 2086-2093.
- [23] Li S S, Deng J Z, Zhao S X. Minor phenolic constituents of chinaberry-tree (*Melia azedarach*). Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2000, 31 (2): 86-89.
- [24] Alché L E, Barquero A A, Sanjuan N A, Coto C E. An antiviral principle present in a purified fraction from *Melia azedarach* L. leaf aqueous extract restrains herpes simplex virus type 1 -propagation. Phytotherapy Research, 2002, 16(4): 348-352.

- [25] 杨吉安,马玉花,苏印泉,冶贵生. 苦楝研究现状及发展前景. 西北林学院学报, 2004, 19(1): 115-118, 122-122.
- [26] 张子晗, 王家源, 喻方圆. 盐胁迫对两种源苦楝种子萌发特性的影响. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2014, 38(5): 107-112.
- [27] 陈平,万福绪,顾汤华,李盟,关庆伟,秦飞.干旱胁迫下侧柏、苦楝等树种的生理生化响应及抗旱性评价.林业科技开发,2012,26 (4):43-48.
- [28] 王家源, 郭杰, 喻方圆. 不同产地苦楝苗木抗寒性差异. 林业科技开发, 2011, 25(3): 67-69.
- [29] Strasser R J, Tsimilli-Michael M, Qiang S, Goltsev V. Simultaneous *in vivo* recording of prompt and delayed fluorescence and 820-nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics, 2010, 1797(6/7): 1313-1326.
- [30] 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.
- [31] Farquhar G D, Sharkey T D. Stomatal conductance and photosynthesis. Annual Review of Plant Physiology, 1982, 33: 317-345.
- [32] Zhang Z S, Jia Y J, Gao H Y, Zhang L T, Li H D, Meng Q W. Characterization of PSI recovery after chilling-induced photoinhibition in cucumber (*Cucumis sativus* L.) leaves. Planta, 2011, 234(5): 883-889.
- [33] 李耕,高辉远,刘鹏,杨吉顺,董树亭,张吉旺,王敬锋. 氮素对玉米灌浆期叶片光合性能的影响. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(3): 536-542.
- [34] Chen H X, Li W J, An S Z, Gao H Y. Characterization of PS II photochemistry and thermostability in salt-treated *Rumex* leaves. Journal of Plant Physiology, 2004, 161(3): 257-264.
- [35] Jia Y J, Cheng D D, Wang W B, Gao H Y, Liu A X, Li X M, Meng Q W. Different enhancement of senescence induced by metabolic products of Alternaria alternata in tobacco leaves of different ages. Physiologia Plantarum, 2010, 138(2): 164-175.
- [36] Lidon F J C, Reboredo F H, Leitão A E, Silva M M A, Duarte M P, Ramalho J C. Impact of UV-B radiation on photosynthesis-an overview. Emirates Journal of Food and Agriculture, 2012, 24(6): 546-556.
- [37] Strasser B J. Donor side capacity of photosystem II probed by chlorophyll a fluorescence transients. Photosynthesis Research, 1997, 52(2): 147-155.
- [38] 金立桥,车兴凯,张子山,高辉远.高温、强光下黄瓜叶片 PSII供体侧和受体侧的伤害程度与快速荧光参数 W<sub>k</sub>变化的关系.植物生理学报,2015,51(6):969-976.
- [39] Doncheva S, Poschenrieder C, Stoyanova Z, Georgieva K, Velichkova M, Barceló J. Silicon amelioration of manganese toxicity in Mn-sensitive and Mn-tolerant maize varieties. Environmental and Experimental Botany, 2009, 65(2/3): 189-197.
- [40] Li Z, Xing F Q, Xing D. Characterization of target site of aluminum phytotoxicity in photosynthetic electron transport by fluorescence techniques in tobacco leaves. Plant and Cell Physiology, 2012, 53(7): 1295-1309.
- [41] 张菂,陈昌盛,李鹏民,马锋旺.利用快速荧光、延迟荧光和820 nm 光反射同步测量技术探讨干旱对平邑甜茶叶片光合机构的伤害机制. 植物生理学报,2013,49(6):551-560.
- [42] Sonoike K. Photoinhibition of photosystem I. Physiologia Plantarum, 2011, 142(1): 56-64.
- [43] Harbinson J, Genty B, Foyer C H. Relationship between photosynthetic electron transport and stromal enzyme activity in pea leaves: toward an understanding of the nature of photosynthetic control. Plant Physiology, 1990, 94(2): 545-553.
- [44] Müller P, Li X P, Niyogi K K. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. Plant Physiology, 2001, 125(4): 1558-1566.
- [45] 万盼, 熊兴政, 黄小辉, 邬静淳, 欧阳, 邓雪梅, 刘芸. 2 种农药胁迫对油桐幼苗叶绿素荧光特性及生长的影响. 林业科学, 2016, 52 (7): 22-29.
- [46] Li P, Song A L, Li Z J, Fan F L, Liang Y C. Silicon ameliorates manganese toxicity by regulating both physiological processes and expression of genes associated with photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.). Plant and Soil, 2015, 397(1/2): 289-301.