

不同浓度Cd²⁺胁迫对苕麻叶绿素及其光合荧光特性的影响

简敏菲^{1,2,*}, 杨叶萍¹, 余厚平², 龚秋林³, 陈勇玲³

江西师范大学¹生命科学学院, 江西省亚热带植物资源保护与利用重点实验室; ²鄱阳湖湿地与流域研究教育部重点实验室, 南昌330022; ³江西省宜春市农业科学研究所, 江西宜春336000

摘要: 以苕麻为材料, 采用盆栽培养, 测定不同浓度镉胁迫下苕麻叶片中叶绿素含量、光合荧光参数及其荧光成像的变化, 以及苕麻的镉耐受性及其光合荧光特性的关系。结果表明, 短时间镉胁迫下, 苕麻叶片的叶绿素a (*Chla*)、叶绿素b (*Chlb*)、总叶绿素含量(*Chlt*)、净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)等指标与对照相比均呈上升趋势, 而胞间CO₂浓度(C_i)与稳态下的非光化学淬灭(NPQ_{ss})呈下降趋势, 且 P_n 、 G_s 、 T_r 与PSII最大量子产率(QY_{max})均在Cd²⁺浓度为60 mg·L⁻¹胁迫下出现最大值; 长时间镉胁迫下, 苕麻叶片的 $Chla$ 、 $Chlb$ 、 $Chlt$ 、 P_n 、 G_s 、 T_r 等指标与对照相比则均呈下降趋势, 而 C_i 呈上升趋势, 除240 mg·L⁻¹ Cd²⁺胁迫后的苕麻叶 QY_{max} 与 NPQ_{ss} 值分别高出对照的2.5%和75.9%外, 其余不同镉浓度处理后的苕麻叶 QY_{max} 或 NPQ_{ss} 值均低于对照。

关键词: 苕麻; 镉胁迫; 光合特性; 荧光成像; 耐受性

Influences of Different Cadmium Concentration Stress on Chlorophyll and Its Photosynthetic Fluorescence Characteristics of Ramie (*Boehmeria nivea*)

JIAN Min-Fei^{1,2,*}, YANG Ye-Ping¹, YU Hou-Ping², GONG Qiu-Lin³, CHEN Yong-Ling³

¹College of Life Sciences, Jiangxi Provincial Key Lab of Protection and Utilization of Subtropical Plant Resources; ²Key Laboratory of Poyang Lake Wetland and Watershed Research, Ministry of Education, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China; ³Yichun Agricultural Science Research Institute of Jiangxi Province, Yichun, Jiangxi 336000, China

Abstract: On the basis of pot experiment methods, we selected ramie (*Boehmeria nivea*) as the materials, and measured all contents of chlorophyll, photosynthetic fluorescence parameters and fluorescence imaging in order to study the relationships among the tolerance to cadmium contamination of *B. nivea* and its photosynthetic fluorescence characteristics under different concentrations of cadmium stress. Under different concentrations of cadmium stress in the short time of 21 days, the results showed that the values of the most parameters of *B. nivea* leaves increased more than those of the control group without any heavy metal stress, and the main parameters which included chlorophyll a, chlorophyll b, the total chlorophyll, and the net photosynthetic rate (P_n), stomatal conductance (G_s), transpiration rate (T_r) and etc., while the values of other parameters included the intercellular CO₂ concentration (C_i) and the non-photochemical quenching under stable state (NPQ_{ss}) decreased less than those of the control group, and the values of the parameters included the net photosynthetic rate (P_n), transpiration rate (T_r), stomatal conductance (G_s) and the maximum quantum yield (QY_{max}) presented the highest under 60 mg·L⁻¹ cadmium stress. With the increasing of stress time, under different concentrations of cadmium stress in the long time of 49 days, the values of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll contents, P_n , G_s , T_r of *B. nivea* leaves decreased than those of the control group, while the values of C_i increased. And the change trend showed that the values of QY_{max} and NPQ_{ss} were lower than those of the control group under different concentrations of cadmium stress except the 240 mg·L⁻¹ cadmium, and which values were higher than those of the control group 2.5%, 75.9%.

Key words: ramie (*Boehmeria nivea*); cadmium stress; photosynthetic characteristics; chlorophyll fluorescence imaging; tolerance

收稿 2015-03-09 修定 2015-07-11

资助 国家自然科学基金项目(41161035和41461042)、国家科技部“十二五”科技支撑计划资助项目(2011BAC13B02)、江西省自然科学基金项目(20142BAB204007)和江西省重大生态安全问题监控协同创新中心资助项目(JXS-EW-03)。

* 通讯作者(E-mail: jianminfei0914@163.com; Tel: 0791-88120193)。

在重金属污染中,镉污染一直被人们密切关注,“镉米事件”的阴影在全球范围内一直未曾消除,近年来更是成为环境研究领域中的热点问题之一。镉也是生物非必须元素和毒性最强的重金属之一,在镉污染环境,植物富集的Cd含量甚至能达到 $0.2\sim 0.8\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Satarug等2003)。现已发现龙葵(*Solanum nigrum*)、印度芥菜(*Brassica juncea*)、东南景天(*Sedum alfredii*) (蒋成爱等2009)、宝山堇菜(*Viola baoshanensis*)等对Cd具有超富集能力,堇菜属的宝山堇菜地上部位Cd含量最高可达 $2\ 310\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (刘威等2003)。镉含量过高,将影响酶活性,特别是过氧化酶活性升高,导致体内积累过多的 H_2O_2 使植物受到毒害,主要表现为叶绿素含量降低、光合作用下降、气孔关闭、叶片失绿、减产等等(刘云国等2007; Kovalchuk等2001; 王欣2010; Huber和Maury 1980)。叶绿素荧光动力学技术能快速、灵敏、无损伤地探测和分析重金属胁迫等逆境对植物光合作用的影响(Govindjee 2004; Scott等2003)。目前,镉胁迫对植物光合生理影响的研究主要集中在大豆(*Glycine max*) (廖柏寒等2010)、草莓(*Fragaria ananassa*) (张金彪和黄维南2007)和球果蕻菜(*Rorippa globosa*) (孙瑞莲等2009)等食用作物方面。

苧麻作为非食用的经济作物,不存在食物链生态安全问题,且具有生物量大,根系发达,农艺性状以根、茎、叶为主,而花、果实、种子等的农艺性状表现形式不明显等特点,具有广泛的用途,对镉具有较强的耐受性和累积能力,在镉污染土壤的植物生态修复实施中具有广阔的实施应用前景(余玮2010)。

镉胁迫下苧麻的光合及叶绿素荧光特性方面的研究尚未见报道。本文研究苧麻经不同浓度镉胁迫后叶片叶绿素含量及其光合荧光特性的变化特征,探讨苧麻的镉耐受性机理,以期为镉污染环境的植物生态修复提供一定的基础数据与理论依据。

材料与方 法

1 材 料

供试材料为苧麻[*Boehmeria nivea* (L.) Gaudich.], 品种为江西省宜春市苧麻研究所提供的‘赣苧5号’幼苗。胁迫实验于2014年7月至9月在室内

采用盆栽培养,培养基质为膨胀珍珠岩,珍珠岩经自来水冲洗后装入口径25 cm、底内径20 cm、深30 cm的塑料盆中,供试药剂为 $\text{CdCl}_2\cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 配制而成的不同浓度 Cd^{2+} 溶液(余玮2010)。移栽长势一致的‘赣苧5号’幼苗(约30 cm),洗净根部所带土壤,每盆移栽2株。采用1/2 Hoagland营养液进行适应性培养7 d,随后进行不同浓度的 Cd^{2+} 胁迫实验。设定6个处理, Cd^{2+} 浓度分别为0(对照)、20、60、120、180和 $240\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。处理21和49 d分别作为研究周期中生长旺盛期和生长成熟期。每个处理重复10盆(5盆用于第21天指标的测定,另5盆用于第49天指标的测定),共60盆。实验期间,每周更换新鲜含 Cd^{2+} 营养液500 mL,营养液pH控制在6.5左右(采用NaOH或HCl溶液调节)。

2 方 法

2.1 叶绿素含量测定

采用分光光度法测定苧麻叶片的叶绿素总量(*Chlt*)、叶绿素a(*Chla*)、叶绿素b(*Chlb*)和 Chla/Chlb 值。在不同浓度 Cd^{2+} 胁迫21和49 d,分别称取0.1 g苧麻顶端倒数第6片叶于研钵中,加入100%二甲亚砜(DMSO)进行提取。参照Arnon (1949)方法计算叶绿素含量,计算公式如下:

$$\text{Chla含量}(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})=12.7A_{663}-2.69A_{645}$$

$$\text{Chlb含量}(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})=22.9A_{645}-4.68A_{663}$$

$$\text{Chlt含量}(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})=\text{Chla}+\text{Chlb}=8.02A_{645}+20.21A_{663}$$

2.2 光合指标的测定

Cd^{2+} 胁迫21和49 d,采用美国LI-COR公司生产的Li-6400型便携式式光合作用测定仪于晴天上午9:00~11:00测定顶端倒数第6叶的净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)、胞间 CO_2 浓度(C_i)和气孔导度(G_s)。测定时 CO_2 浓度为 $380\ \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$,光照强度为 $1\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,叶室温度为 $28\ ^\circ\text{C}$ (刘飞虎2010)。每处理平行测定3株,取平均值(Mean \pm SD)。

2.3 叶绿素荧光参数的测定及成像方法

Cd^{2+} 胁迫21和49 d,运用FluraCam便携式叶绿素荧光成像仪于晴天上午9:00~11:00测定苧麻叶片顶端倒数第6叶的荧光参数和活体荧光成像。测定时,植株充分暗适应120 min,设定快门Shutter=0,敏感度Sensitivity=20,光照AChlt2=100, AChlt1=100, Super=70测定叶片叶绿素荧光参数(Ralph等2005)。

3 数据处理

采用统计软件SPSS 20.0进行单因素方差分析(One-way, ANOVA)和最小显著差异法(LSD), 对苧麻在不同镉浓度水平下的指标测定数据进行差异性比较, Origin 8.0进行制图。

实验结果

1 不同浓度Cd²⁺胁迫对苧麻叶片叶绿素合成的影响

如表1所示, 随着胁迫时间的延长, 对照与20 mg·L⁻¹ Cd²⁺处理的各类色素呈上升趋势, 60~240 mg·L⁻¹ Cd²⁺处理的呈下降趋势, 叶绿素a/b (*Chla/Chlb*)比值也总体呈下降趋势。而随着Cd²⁺浓度的增加, 各类光合色素、*Chla/Chlb*与对照并不呈单

一的上升或下降趋势, 但各类光合色素均与*Chla/Chlb*变化呈相反趋势, 说明Cd²⁺对叶绿素b的影响比对叶绿素a的影响更大。

第21天, 与对照相比, Cd²⁺胁迫下的各类光合色素含量均有所增加, 60 mg·L⁻¹ Cd²⁺处理的差异达到显著性水平; 180 mg·L⁻¹ Cd²⁺处理的色素含量达到最大, *Chla*、*Chlb*和*Chlt*含量分别极显著高出对照26.1%、51.0%和32.9% ($P<0.01$); 其余各处理浓度间差异不明显。*Chla/Chlb*均减小, 60 mg·L⁻¹ Cd²⁺处理的与对照的差异达到显著性水平; 180 mg·L⁻¹ Cd²⁺处理的最小, *Chla/Chlb*比对照极显著下降15.9% ($P<0.01$); 其余各处理间相差不大, 说明短时间胁迫能促进苧麻叶片叶绿素的生成, 并降低*Chla/Chlb*。

表1 不同浓度Cd²⁺胁迫下苧麻叶片叶绿素含量的变化

Table 1 Changes of chlorophyll contents of *B. nivea* leaves under different concentrations of cadmium stress

Cd ²⁺ 浓度/ mg·L ⁻¹	叶绿素a含量/mg·g ⁻¹ (FW)		叶绿素b含量/mg·g ⁻¹ (FW)		叶绿素a/b (<i>Chla/Chlb</i>)		总叶绿素含量/mg·g ⁻¹ (FW)	
	第21天	第49天	第21天	第49天	第21天	第49天	第21天	第49天
0 (对照)	1.565±0.098 ^{Cd}	1.940±0.110 ^{Aa}	0.584±0.055 ^{Cc}	0.876±0.102 ^{Aa}	2.687±0.082 ^{Aa}	2.227±0.144 ^{Bb}	2.149±0.153 ^{Cd}	2.816±0.212 ^{Aa}
20	1.619±0.019 ^{Bcd}	1.671±0.050 ^{Bb}	0.608±0.019 ^{BCc}	0.678±0.033 ^{Bb}	2.666±0.052 ^{Aa}	2.466±0.048 ^{ABa}	2.227±0.038 ^{Ccd}	2.349±0.082 ^{Bb}
60	1.842±0.046 ^{ABab}	1.697±0.090 ^{ABb}	0.749±0.033 ^{ABb}	0.699±0.063 ^{Bb}	2.461±0.050 ^{ABb}	2.435±0.095 ^{ABa}	2.591±0.080 ^{ABb}	2.396±0.152 ^{Bb}
120	1.712±0.008 ^{Bbc}	1.597±0.113 ^{Bb}	0.655±0.001 ^{BCbc}	0.616±0.070 ^{Bb}	2.613±0.010 ^{Aab}	2.601±0.123 ^{Aa}	2.367±0.090 ^{BCbcd}	2.213±0.183 ^{Bb}
180	1.974±0.118 ^{Aa}	1.723±0.116 ^{ABb}	0.882±0.127 ^{Aa}	0.702±0.074 ^{ABb}	2.259±0.206 ^{Bc}	2.460±0.095 ^{ABa}	2.856±0.245 ^{Aa}	2.425±0.189 ^{ABb}
240	1.752±0.084 ^{Bbc}	1.698±0.112 ^{ABb}	0.677±0.057 ^{BCbc}	0.663±0.068 ^{Bb}	2.592±0.099 ^{Aab}	2.568±0.105 ^{Aa}	2.429±0.140 ^{BCbc}	2.361±0.179 ^{Bb}

不同大写字母表示不同处理间的极显著差异性($P<0.01$), 不同小写字母表示不同处理间的显著差异性($P<0.05$)。下表同此。

第49天, 与对照相比, Cd²⁺胁迫下的光合色素含量均显著下降, 120 mg·L⁻¹ Cd²⁺处理的最小, *Chla*、*Chlb*和*Chlt*含量分别比对照极显著下降17.6%、29.7%和21.4% ($P<0.01$), 其余各处理间差异不显著。*Chla/Chlb*均显著增加, 120 mg·L⁻¹ Cd²⁺处理的最高, 比对照极显著高出16.8% ($P<0.01$), 其余各处理间差异不显著, 说明长时间胁迫可能抑制苧麻叶片叶绿素的生成, 并升高*Chla/Chlb*值。

2 不同浓度Cd²⁺胁迫对苧麻叶片光合作用的影响

随着胁迫时间的延长, Cd²⁺胁迫下的各项气体交换参数均呈下降趋势; 而随着镉胁迫浓度的增加, 各项气体交换参数与对照相比并不呈单一的上升或下降趋势, 且低浓度Cd²⁺胁迫下参数的上升或下降更明显, 说明苧麻对镉有一定的耐受能力(图1)。

第21天, 与对照相比, Cd²⁺胁迫下的净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)和蒸腾速率(T_r)均极显著增加(图1-A~C), 随胁迫浓度的增加先上升后下降。

在60 mg·L⁻¹ Cd²⁺胁迫下, P_n 、 G_s 和 T_r 达到最大值, 分别极显著高出对照135.3%、208.8%和151.4% ($P<0.01$)。胞间CO₂浓度(C_i)较对照均极显著下降(图1-D), 且随着胁迫浓度的增加先下降后上升, 在60 mg·L⁻¹ Cd²⁺胁迫下达到最小值, 比对照极显著下降39.2% ($P<0.01$)。说明短时间胁迫下 P_n 、 G_s 和 T_r 的变化趋势相同, 且均与 C_i 变化趋势相反; 短时间胁迫能有效刺激苧麻的光合作用。

第49天, 与对照相比, Cd²⁺胁迫下的 P_n 均极显著下降, 且随胁迫浓度的增加先上升后下降, 在240 mg·L⁻¹ Cd²⁺胁迫下达到最小值, 比对照极显著下降66.8%, 各处理间差异性极显著($P<0.01$)。 G_s 较对照均极显著下降, 在240 mg·L⁻¹ Cd²⁺胁迫下也达到最小值, 比对照极显著下降57.5% ($P<0.01$), 各处理间的差异性多为显著($P<0.05$)。60 mg·L⁻¹ Cd²⁺胁迫下的 T_r 较对照略微下降, 其余4个处理则极显著下降, 在240 mg·L⁻¹ Cd²⁺胁迫下达到最小值, 比对照

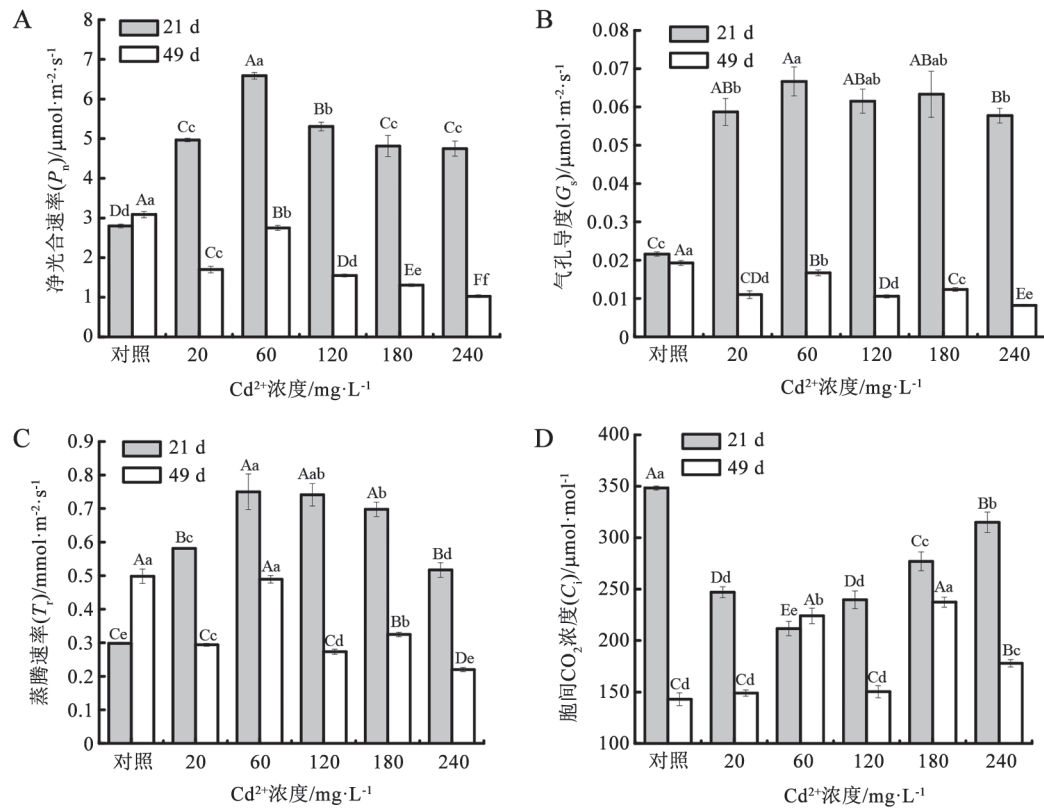


图1 不同浓度Cd²⁺胁迫对苕麻叶片气体交换参数的影响

Fig.1 Influence of different concentrations of cadmium stress on the gas exchange parameters in *B. nivea* leaves
不同大写字母表示不同处理间的极显著差异性($P < 0.01$), 不同小写字母表示不同处理间的显著差异性($P < 0.05$). 下图同此。

极显著下降55.8% ($P < 0.01$), 各处理间差异性多为显著($P < 0.05$)。20与120 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd²⁺胁迫下的 C_i 比对照略微上升, 其余3个处理则极显著上升, 且在180 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd²⁺胁迫下达到最大值, 比对照高出66.0% ($P < 0.01$), 各处理间差异多为显著($P < 0.05$)。说明长时间胁迫 P_n 、 G_s 、 T_r 与 C_i 变化的相关性不明显, 但在240 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd²⁺胁迫下均出现 P_n 、 G_s 和 T_r 的最小值, 最大值都出现在60 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd²⁺胁迫下。长时间高浓度Cd²⁺胁迫严重抑制苕麻的光合作用(P_n)、降低气孔导度(G_s)和降低蒸腾速率(T_r), 但生长状态良好, 对存活率几乎无影响, 这可能与苕麻的镉耐受性有关。

3 不同浓度Cd²⁺胁迫对苕麻叶片叶绿素荧光参数及成像的影响

由表2与图2可知, 随着胁迫时间的延长, Cd²⁺胁迫下的初始荧光(F_0)均上升; PSII最大量子产率(QY_{max})与PSII潜在活性(F_v/F_0)除在240 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd²⁺胁迫下上升, 其余浓度Cd²⁺胁迫的均下降。稳态下的有效量子产率($F_v/F_m I_{\text{ss}}$)在低浓度Cd²⁺胁迫下上

升, 高浓度Cd²⁺胁迫下下降。稳态下的非光化学淬灭($NPQ_{I_{\text{ss}}}$)在低浓度胁迫下下降, 高浓度胁迫下上升。最大荧光(F_m)和可变荧光(F_v)规律不明显。而随着Cd²⁺浓度增加, 叶绿素荧光参数 F_0 、 F_m 、 F_v 、 F_v/F_0 、 QY_{max} 、 $F_v/F_m I_{\text{ss}}$ 与对照相比, 总体呈下降趋势; $NPQ_{I_{\text{ss}}}$ 在胁迫早期随Cd²⁺浓度增加下降, 而在胁迫晚期随Cd²⁺浓度增加先下降后上升。

如表2所示, 第21天, 与对照相比, F_0 随着Cd²⁺浓度的增加之间显著下降($P < 0.05$), 60~180 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd²⁺胁迫的 F_0 之间差异性不显著。Cd²⁺胁迫下的 F_m 均小于对照, 120~240 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd²⁺胁迫的 F_m 之间差异不大。第49天, 与对照对比, 在20和60 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd²⁺胁迫下的 F_0 值略有升高, 其余3个处理的 F_0 均较对照极显著下降($P < 0.01$), 180与240 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd²⁺胁迫下的 F_0 差异性不显著; 20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd²⁺胁迫下的 F_m 值比对照略微下降, 其余4个Cd²⁺胁迫下的 F_m 均比对照极显著下降($P < 0.01$), 180 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd²⁺胁迫下降幅最多; Cd²⁺浓度为20和240 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 F_v 值比对照略微降低, 其他处理的 F_v 值都随Cd²⁺浓度增加极显

表2 不同浓度Cd²⁺胁迫下苧麻叶片的荧光参数(F_o 、 F_m 、 F_v 、 F_v/F_o)的变化
Table 2 Changes of chlorophyll fluorescence parameters (F_o 、 F_m 、 F_v 、 F_v/F_o) in *B. nivea* leaves under different concentrations of cadmium stress

Cd ²⁺ 浓度/mg·L ⁻¹	初始荧光(F_o)		最大荧光(F_m)	
	第21天	第49天	第21天	第49天
0 (对照)	801.747±19.277 ^{Aa}	909.330±17.236 ^{Aa}	1731.470±36.835 ^{Aa}	1877.313±81.414 ^{Aa}
20	758.670±4.887 ^{ABb}	940.693±26.310 ^{Aa}	1633.200±34.047 ^{Bb}	1817.830±34.268 ^{ABab}
60	746.077±10.023 ^{Bbc}	911.543±8.075 ^{Aa}	1712.560±36.106 ^{ABa}	1663.487±63.049 ^{Cc}
120	729.517±27.913 ^{Bbc}	867.460±30.400 ^{Bb}	1334.883±34.071 ^{Cc}	1437.283±43.647 ^{Dd}
180	714.770±22.793 ^{BCc}	814.463±19.698 ^{Cc}	1291.510±32.844 ^{Cc}	1146.043±52.277 ^{Ee}
240	672.747±25.421 ^{Cd}	819.087±16.137 ^{BCc}	1318.093±24.771 ^{Cc}	1737.733±38.525 ^{BCbc}

Cd ²⁺ 浓度/mg·L ⁻¹	可变荧光(F_v)		潜在活性(F_v/F_o)	
	第21天	第49天	第21天	第49天
0 (对照)	929.723±56.063 ^{ABab}	967.983±79.300 ^{Aa}	1.161±0.096 ^{Bb}	1.065±0.089 ^{ABab}
20	874.530±30.692 ^{Bb}	877.137±60.291 ^{ABa}	1.153±0.036 ^{Bb}	0.934±0.091 ^{BCbc}
60	966.483±35.269 ^{Aa}	751.943±59.059 ^{Bb}	1.296±0.051 ^{Aa}	0.825±0.062 ^{CDc}
120	605.367±8.486 ^{Ccd}	569.823±13.292 ^{Cc}	0.830±0.026 ^{CDd}	0.657±0.005 ^{Dd}
180	576.740±16.768 ^{Cd}	331.580±43.461 ^{Dd}	0.807±0.027 ^{Dd}	0.407±0.051 ^{Ee}
240	645.367±14.242 ^{Cc}	918.647±53.796 ^{Aa}	0.960±0.048 ^{Cc}	1.123±0.086 ^{Aa}

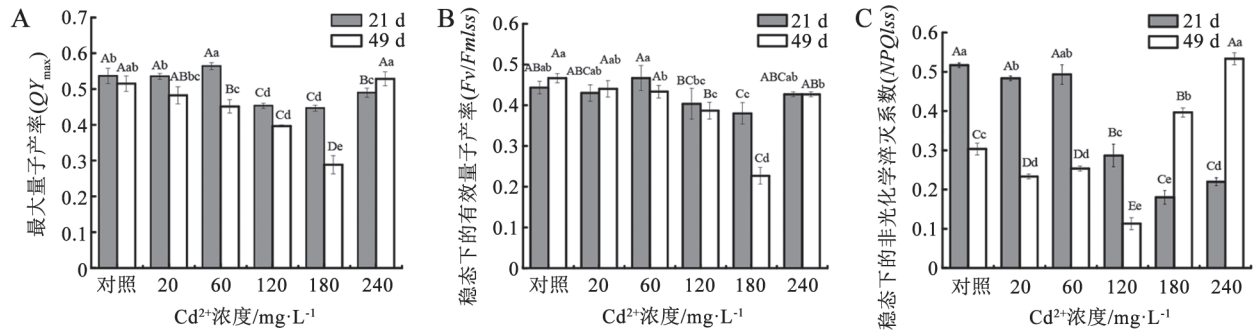


图2 不同浓度Cd²⁺胁迫下苧麻叶绿素荧光参数的变化

Fig.2 Changes of chlorophyll fluorescence parameters in *B. nivea* leaves under different concentrations of cadmium stress

著下降($P < 0.01$); F_v/F_o 随Cd²⁺浓度增加呈下降趋势, 但240 mg·L⁻¹ Cd²⁺胁迫下的 F_v/F_o 比对照有所增加。

如图2所示, 第21天, 与对照相比, 60 mg·L⁻¹ Cd²⁺胁迫的 QY_{max} (图2-A)与 $F_v/F_m I_{ss}$ (图2-B)分别高出对照5%和5.3%, 其余处理的 QY_{max} 与 $F_v/F_m I_{ss}$ 均比对照略有下降; 180 mg·L⁻¹ Cd²⁺胁迫下的降幅最明显, QY_{max} 与 $F_v/F_m I_{ss}$ 分别比对照极显著下降16.8%和14.2% ($P < 0.01$)。Cd²⁺胁迫下的 $NPQ I_{ss}$ 均小于对照, 且在180 mg·L⁻¹ Cd²⁺胁迫下降幅最大, 比对照极显著下降65.9% ($P < 0.01$) (图2-C)。第49天, 与对照相比, 240 mg·L⁻¹ Cd²⁺胁迫下的 QY_{max} 高出对照2.5%, 其余处理均比对照有所下降, 180 mg·L⁻¹ Cd²⁺胁迫

下降幅最明显, 比对照极显著下降43.9% ($P < 0.01$)。20 mg·L⁻¹ Cd²⁺胁迫下的 $F_v/F_m I_{ss}$ 比对照略微下降, 其余4组均比对照显著下降($P < 0.05$)。180与240 mg·L⁻¹ Cd²⁺胁迫下的 $NPQ I_{ss}$ 极显著高出对照31.0%、75.9% ($P < 0.01$), 其余胁迫均极显著低于对照。说明长时间高浓度胁迫可增强苧麻的光能利用率并启动非光化学耗能机制, 从而进行自我保护。

如图3所示, 第21天, 从 QY_{max} 成像图中可看出, 60 mg·L⁻¹ Cd²⁺胁迫下的橘黄色部位面积最大, 说明此浓度下苧麻的光能转化率最高, 与此浓度的净光合速率呈正向一致性。第49天, 从 QY_{max} 成像图中可看出, 240 mg·L⁻¹ Cd²⁺胁迫下的橘黄色部位面

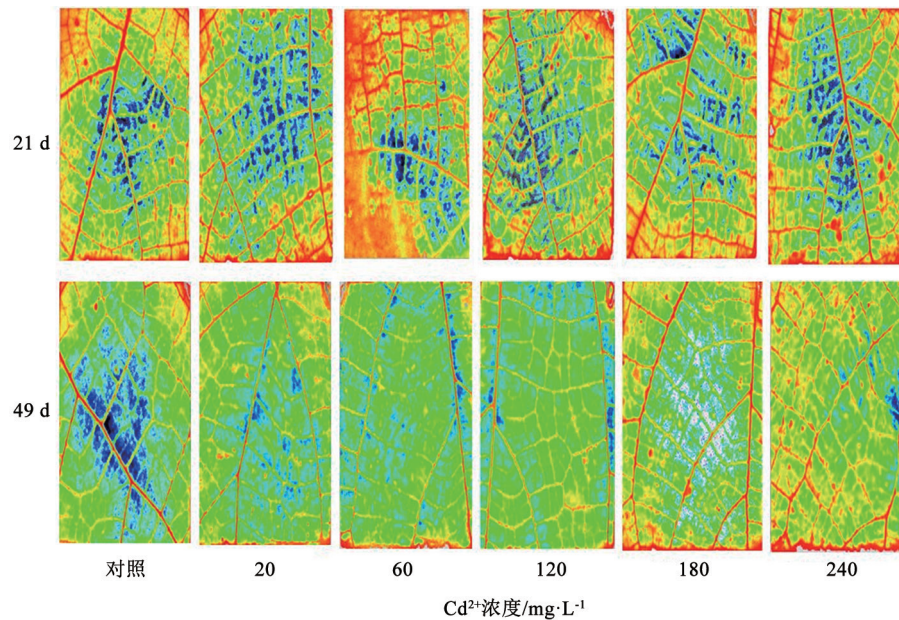


图3 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫下苕麻叶绿素荧光参数 QY_{\max} 的成像

Fig.3 Imaging of chlorophyll fluorescence parameter QY_{\max} in *B. nivea* leaves under different concentrations of cadmium stress

积最大, 此浓度的 QY_{\max} 成像图与净光合速率趋势不同, 说明此时净光合速率不仅受到光合系统的影响, 还受到气孔导度及叶绿素等影响。

4 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫下各指标的相关关系

研究不同 Cd^{2+} 浓度和胁迫时间的苕麻叶绿素及其光合荧光特性各指标间的相关性也具有明显的科学价值。

表3显示, 第21天, *Chla*、*Chlb*以及*Chlt*与 Cd^{2+} 浓度均呈显著正相关, 相关系数 r 分别为0.556、0.478、0.525, *Chla/Chlb*与 Cd^{2+} 浓度相关性不明显。 P_n 、 C_i 和 T_r 与 Cd^{2+} 浓度相关性不明显。 G_s 与 Cd^{2+} 浓度呈显著正相关, 相关系数 r 为0.471。 F_o 、 F_m 、 F_v 、

QY_{\max} 和 $NPQ_{I_{ss}}$ 均与 Cd^{2+} 浓度呈极显著负相关, 相关系数 r 分别为-0.881、-0.880、-0.814、-0.676和-0.925, F_v/F_o 、 $F_v/F_m I_{ss}$ 与 Cd^{2+} 浓度相关性不明显。第49天, *Chla*、*Chlb*、*Chlt*与 Cd^{2+} 浓度相关性不明显, *Chla/Chlb*与 Cd^{2+} 浓度呈显著正相关, 相关系数 r 为0.548。 P_n 、 G_s 和 T_r 与 Cd^{2+} 浓度呈极显著负相关, 相关系数分别为-0.805、-0.702和-0.684, C_i 与 Cd^{2+} 浓度相关性不明显。 F_o 值与 Cd^{2+} 浓度呈极显著负相关, F_m 与 Cd^{2+} 浓度呈显著负相关, $NPQ_{I_{ss}}$ 与 Cd^{2+} 浓度呈极显著正相关, 相关系数 r 分别为-0.881、-0.519和0.634, F_v 、 F_v/F_o 、 QY_{\max} 、 $F_v/F_m I_{ss}$ 与 Cd^{2+} 浓度相关性不明显。

表3 Cd^{2+} 胁迫下各指标的相关性

Table 2 The correlation among all parameters of *B. nivea* leaves under cadmium stress

胁迫时间/d	<i>Chla</i>	<i>Chlb</i>	<i>Chlt</i>	<i>Chla/Chlb</i>	P_n	G_s	C_i	T_r	F_o	F_m	F_v	QY_{\max}	F_v/F_o	$F_v/F_m I_{ss}$	$NPQ_{I_{ss}}$
21	0.556*	0.478*	0.525*	-0.405	0.204	0.471*	0.105	0.300	-0.881**	-0.880**	-0.814**	-0.676**	-0.435	-0.678	-0.925*
49	-0.325	-0.438	-0.375	0.548*	-0.805**	-0.702**	0.417	-0.684**	-0.881**	-0.519*	-0.385	-0.280	-0.216	-0.517	0.634**

*: $P < 0.05$ 水平上显著相关; **: $P < 0.01$ 水平上极显著相关。

讨 论

光合色素含量在一定程度上影响光合作用的能力(Bot等1990)。刘劲松等(2011)研究认为, 在镉

胁迫下, 随着胁迫浓度增加和胁迫时间延长, 光合色素含量呈下降趋势。 Cd^{2+} 不仅影响苕麻的叶绿素合成, 而且会影响植株的光合作用。PSII的最大量子产量 QY_{\max} 反映植物潜在的最大光合能力, 一

般植物处于逆境时 F_v/F_m 下降(陈建明等2006)。

本研究表明, 短时期(21 d)胁迫下增加苧麻叶片叶绿素含量, 且 $Chla$ 、 $Chlb$ 以及叶绿素总量 $Chlt$ 与 Cd^{2+} 浓度均呈显著正相关; 长时期(49 d)胁迫下降低叶绿素含量, 但 $Chla$ 、 $Chlb$ 、 $Chlt$ 与 Cd^{2+} 浓度相关性不明显, 与孙晓灿等(2011)的研究结果相一致。短时间(21 d)处理促进新叶的生成, 增加苧麻的生长速率和茎粗, 并促进须根的生长, 可能是由于生长旺盛期苧麻受Cd毒害后, 需要消耗更多的能量, 且有其他氧化酶进行协同抵抗, 也有可能 Cd^{2+} 促进矿质元素吸收从而形成早期的刺激作用以维持体内代谢平衡; 当处理时间延长时, 更多的镉进入植物体细胞内, Cd^{2+} 可能与叶绿体蛋白质上的巯基结合或取代其中的 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Mg^{2+} , 破坏叶绿体的结构和功能(张金彪和黄维南2007; Hauck等2003), 使叶绿素酶活性比例失调, 叶绿素分解加快, 生理平衡被打破且逐渐被抑制作用代替, 致使含量下降。短时间(21 d)胁迫 $Chla/Chlb$ 下降, 但与 Cd^{2+} 浓度相关性不明显, 长时间(49 d)胁迫 $Chla/Chlb$ 与 Cd^{2+} 浓度呈显著正相关。说明 Cd^{2+} 对叶绿素b的影响比叶绿素a大, 这与惠俊爱等(2010)的研究结果不同, 可能是由于实验材料不同, 植物体内的耐性机制不同造成的。研究表明, 短时间胁迫促进苧麻光合色素产生, 是增加 P_n 的重要原因之一; 长时间胁迫对苧麻存活率几乎没影响, 苧麻的各部位 Cd^{2+} 含量从高到低依次为根>皮>茎>叶, 且随着浓度的增加吸收量依次升高, 最高处理浓度苧麻根部镉含量高达 $9\ 023\ mg\cdot kg^{-1}$, 茎部达 $2\ 652\ mg\cdot kg^{-1}$ 。所以农业上可以利用苧麻生长旺盛期进行镉污染土壤的植物生态修复, 以达到理想的修复效果。

短时期胁迫下苧麻叶片光合速率有增强趋势, 但 P_n 、 C_i 、 T_r 等与 Cd^{2+} 浓度相关性不明显, G_s 与 Cd^{2+} 浓度呈显著正相关; 长时期胁迫下光合速率下降, P_n 、 G_s 、 T_r 等与 Cd^{2+} 浓度呈极显著负相关, C_i 与 Cd^{2+} 浓度相关性不明显, 这与叶绿素含量变化趋势相同。生长旺盛期(21 d)的净光合速率均显著高于对照, 且在 $60\ mg\cdot L^{-1}Cd^{2+}$ 浓度胁迫下的净光合速率(P_n)最大, 可推测此浓度可能是利用苧麻进行植物生态修复的最佳浓度; 成熟期(49d)胁迫下的 P_n 均比对照显著下降, P_n 下降主要因为气孔限制(Farquhar和Sharkey 1982)和非气孔限制。 C_i 值的大小是

评判气孔限制和非气孔限制的依据(Pozo等2005), P_n 、 G_s 和 C_i 值同时下降时为气孔限制; P_n 值下降而 C_i 值升高时为非气孔限制, 说明非气孔限制是光合作用的限制因素。研究表明, 苧麻叶片的 P_n 、 G_s 和 T_r 变化趋势与 C_i 变化趋势相反, 说明苧麻的净光合速率在后期下降主要是非气孔限制。 P_n 的下降原因较复杂, 首先, 叶绿素含量下降可能是 P_n 下降的原因之一; 其次, 可能是因为镉胁迫导致脱落酸(abscisic acid, ABA)含量增加, ABA可引起 G_s 下降(Poschenrieder等1989), 而 G_s 下降则引起 T_r 下降, T_r 下降引起水分供应不足, 导致光抑制, 而植物为避免光抑制导致PSI和PSII电子传递速率减少(Das等1997)。所以, 在胁迫晚期苧麻的耐性机制更为复杂, 由多因素调控内在生理代谢。胁迫早期(21 d)苧麻通过增加光合色素含量, 升高或降低 G_s 和 T_r 等生理变化适应镉环境, 虽然长时间(49 d)高浓度胁迫苧麻光合色素及光合作用下降, 但是通过降低 G_s , 增强自我保护机制, 且存活率依然很高, 反映苧麻耐镉能力很强。

叶绿素荧光能够有效反馈光合机构的重要调节过程, 通过对荧光参数分析, 可以得到植物生理变化与光能利用的信息(梁文斌等2010; 张守仁1999; 罗青红等2006; 尹贇鹏等2010; 王振兴等2014)。表3表明, 苧麻在 $60\ mg\cdot L^{-1}Cd^{2+}$ 浓度下经历短时期(21 d)胁迫后的 QY_{max} 值显著高出对照5%, 且 F_o 、 F_m 、 F_v 、 QY_{max} 、 NPQ_{ss} 均与 Cd^{2+} 浓度呈极显著负相关, F_v/F_o 、 F_v/F_mI_{ss} 与 Cd^{2+} 浓度相关性不明显; 而在最高浓度 $240\ mg\cdot L^{-1}Cd^{2+}$ 长时期(49 d)胁迫后的 QY_{max} 值反超对照, 且 F_o 值与 Cd^{2+} 浓度呈极显著负相关, F_m 与 Cd^{2+} 浓度呈显著负相关, NPQ_{ss} 与 Cd^{2+} 浓度呈极显著正相关, F_v 、 F_v/F_o 、 QY_{max} 、 F_v/F_mI_{ss} 与 Cd^{2+} 浓度相关性不明显。说明高浓度 Cd^{2+} 胁迫促进PSII对光能的利用能力, 这可能与苧麻的耐性有关。PSII反应中心的破坏或可逆失活会引起 F_o 水平的增加。本研究表明, 随着 Cd^{2+} 浓度升高, F_o 水平呈下降趋势, 但降幅不大, 说明胁迫早期PSII损伤程度较小, 苧麻对镉有较高的耐受能力。非光化学淬灭系数NPQ值大小反应PSII反应中心对天线色素吸收后的热耗散能力, 是一种自我保护机制(Badger等2000; 张守仁1999), 许多研究表明, Cd促进植物的光抑制作用(凌丽俐等2013; 李

亚藏等2009)。本研究表明,短时间内非光化学淬灭系数NPQ不但没升高反倒降低,说明短时间镉胁迫对苧麻光合系统电子传递速率有促进作用;长时间胁迫下最高Cd²⁺浓度处理组的NPQ_{ss}值显著高出对照对应值75.9%,说明此时苧麻非光化学淬灭机制发挥显著效果,以耗散光能形成保护机制,这是否与苧麻对Cd²⁺的耐受性有关尚需要更加深入的研究。

参考文献

- 陈建明, 俞晓平, 程家安(2006). 叶绿素荧光动力学及其在植物抗逆生理研究中的应用. 浙江农业学报, 18 (1): 51~55
- 惠俊爱, 党志, 叶庆生(2010). 镉胁迫对玉米光合特性的影响. 农业环境科学学报, 29 (2): 205~210
- 蒋成爱, 吴启堂, 吴顺辉, 龙新宪(2009). 东南景天与不同植物混作对土壤重金属吸收的影响. 中国环境科学, 29 (9): 985~990
- 李亚藏, 梁彦兰, 王庆成(2009). 镉对茶条槭和五角槭光合作用和叶绿素荧光特性的影响. 西北植物学报, 29 (9): 1881~1886
- 梁文斌, 薛生国, 沈吉红, 王萍(2010). 镉胁迫对垂序商陆光合特性及叶绿素荧光参数的影响. 生态学报, 30 (3): 619~625
- 廖柏寒, 刘俊, 周航, 曾敏, 黄运湘, 周细红, 曾清如(2010). Cd胁迫对大豆各发育阶段生长及生理指标的影响. 中国环境科学, 30 (11): 1516~1521
- 凌丽俐, 彭良志, 王男麒, 邢飞, 江才伦, 曹立, 淳长品(2013). 缺镁胁迫对扭荷尔脐橙叶绿素荧光特性的影响. 生态学报, 33 (1): 71~78
- 刘飞虎(2010). 植物品种净光合速率测定的取样技术-以苧麻(*Boehmeria nivea* (L.) Gaud.)为例. 云南大学学报(自然科学版), 32 (2): 221~226.
- 刘劲松, 石辉, 李秧秧(2011). 镉胁迫对黄瓜幼苗光合和叶绿素荧光特性的影响. 水土保持研究, 18 (5): 187~196
- 刘威, 束文圣, 蓝崇环(2003). 宝山堇菜(*Viola baoshanensis*)一种新的镉超富集植物. 科学通报, 48 (19): 2046~2049
- 刘云国, 王欣, 曾光明, 艾比布·努扎艾提, 李欣(2007). 外源精胺对镉胁迫下苧麻生理代谢的影响. 中国环境科学, 27 (1): 84~88
- 罗青红, 李志军, 伍维模, 韩路(2006). 胡杨、灰叶胡杨光合及叶绿素荧光特性的比较研究. 西北植物学报, 26 (5): 983~988
- 余玮(2010). 苧麻对重金属吸收和积累特征及镉胁迫响应基因表达研究[学位论文]. 长沙: 湖南农业大学
- 孙瑞莲, 王文兴, 周启星(2009). 球果蕹菜脯氨酸的积累及与Cd耐受性的关系. 中国环境科学, 29 (2): 142~146
- 孙晓灿, 魏虹, 田晓锋, 贾中民(2011). 镉胁迫对金丝垂柳幼苗生长及叶绿素荧光特性的影响. 广西植物, 31 (4): 490~494
- 王欣(2010). 苧麻镉耐性机制及应用研究[学位论文]. 长沙: 湖南大学
- 王振兴, 陈丽, 艾军, 刘迎雪, 何伟, 许培磊, 秦红艳, 赵滢(2014). 不同干旱胁迫对山葡萄的光合作用和光系统II活性的影响. 植物生理学报, 50 (8): 1171~1176
- 尹毓鹏, 刘雪梅, 商志伟, 任静, 宋兴舜(2011). 不同干旱胁迫下欧李光合及叶绿素荧光参数的响应. 植物生理学报, 47 (5): 452~458.
- 张金彪, 黄维南(2007). 镉胁迫对草莓光合的影响. 应用生态学报, 18 (7): 1673~1676
- 张守仁(1999). 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论. 植物学通报, 16 (4): 444~448
- Amon DI (1949). Copper Enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol, 24 (1): 1~15
- Badger MR, von Caemmerer S, Ruuska S, Nakano H (2000). Electron flow to oxygen in higher plants and algae: rates and control of direct photo reduction (Mehler reaction) and rubisco oxygenase. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 355 (1402): 1433~1446
- Bot JL, Goss MJ, Carvalho MJPR, Beusichem MLV, Kirkby EA (1990). The significance of the magnesium to manganese ratio in plant tissues for growth and alleviation of manganese toxicity in tomato and wheat plants. Plant Soils, 124 (2): 205~210
- Das P, Samantaray S, Rout GR (1997). Studies on cadmium toxicity in plants: a review. Environ Pollut, 98 (1): 29~36
- Farquhar GD, Sharkey TD (1982). Stomatal conductance and photosynthesis. Ann Rev Plant Biol, 33 (3): 317~345
- Govindjee (2004). Chlorophyll A Fluorescence: A Bit of Basics and History. Springer, The Netherlands: 19 (1): 1~41
- Hauck M, Paul A, Gross S, Raubuch M (2003). Manganese toxicity in epiphytic lichens chlorophyll degradation and interaction with iron and phosphorus. Environ Exp Bot, 49 (2): 181~191
- Huber SC, Maury W (1980). Effects of magnesium on intact chloroplasts: I. EVIDENCE FOR ACHLIVATION OF (SODIUM) POTASSIUM/PROTON EXCHANGE ACROSS THE CHLOROPLAST ENVELOPE. Plant Physiol, 65 (2): 350~354
- Kovalchuk O, Titov V, Hohn B, Kovalchuk I (2001). A sensitive transgenic plant system to detect toxic inorganic compounds in the environment. Nat Biotechnol, 19 (6): 568~572
- Poschenrieder C, Gunsé B, Barceló J (1989). Influence of cadmium on water relations, stomatal resistance and abscisic acid content in expanding bean leaves. Plant Physiol, 90 (4): 1365~1371
- Pozo AD, Perez P, Morcuende R, Alonso A, Martinez-Carrasco R (2005). Acclimatory responses of stomatal conductance and photosynthesis to elevated CO₂ and temperature in wheat crops grown at varying levels of N supply in a Mediterranean environment. Plant Sci, 169 (5): 908~916
- Ralph PJ, Schreiber U, Gademann R, Kühl M, Larkum AWD (2005). Coral photobiology studied with a new imaging pulse amplitude modulated fluorometer. J Phycol, 41 (2): 335~342
- Scott TL, Janusz A, Perkins MV, Megharaj M, Naidu R, Kirkbride KP (2003). Effect of amphetamine precursors and by products on soil enzymes of two urban soils. Bull Environ Contam Toxicol, 70 (4): 824~83
- Satarug S, Baker JR, Urbenjapol S, Haswell-Elkins M, Reilly EB, Williams DJ, Moore MR (2003). A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population. Toxicol Lett, 137 (1-2): 65~83