

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第12期

Vol.39 No.12

2018

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次(卷终)

中国燃煤电厂大气污染物排放的健康影响特征	秦雨, 张强, 李鑫, 赵红艳, 同丹, 郑逸璇, 耿冠楠, 贺克斌	(5289)
基于 LUR 模型的中国 PM _{2.5} 时空变化分析	刘炳杰, 彭晓敏, 李继红	(5296)
长三角淳安地区二次颗粒物污染形成机制	黄丹丹, 周敏, 余传冠, 朱书慧, 王裕成, 乔利平, 楼晟荣, 陶士康, 杨强, 李莉	(5308)
春季沙尘过程北京市不同粒径大气气溶胶污染特征及来源分析	杨阳, 李杏茹, 陈曦, 刘水桥, 刘雨思, 徐静, 王莉莉, 陶明辉, 王格慧	(5315)
成都双流夏秋季环境空气中 VOCs 污染特征	邓媛元, 李晶, 李亚琦, 吴蓉蓉, 谢绍东	(5323)
佛山市典型铝型材行业表面涂装 VOCs 排放组成	李霞, 苏伟健, 黎碧霞, 龙森, 黎丽莉, 张洲, 于跃刚, 王云鹏, 王新明	(5334)
四川省人为源大气污染物排放清单及特征	周子航, 邓也, 谭钦文, 吴柯颖, 杨欣悦, 周小玲	(5344)
炼焦工序颗粒物排放特征	王彦辉, 赵亮, 孙文强, 叶竹, 蔡九菊	(5359)
小流域大气氮干湿沉降特征	王焕晓, 庞树江, 王晓燕, 樊彦波	(5365)
流域氮素主要输出途径及变化特征	李文超, 雷秋良, 翟丽梅, 刘宏斌, 胡万里, 刘申, 任天志	(5375)
生物炭配施缓控释肥对稻田田面水氮素动态变化及径流流失的影响	斯林林, 周静杰, 吴良欢, 胡兆平	(5383)
长江上游农业源溪流雨季中 N ₂ O 间接排放特征	田琳琳, 王正, 朱波	(5391)
不同氮污染特征河流 N ₂ O 浓度、释放通量与排放系数	王森, 李亚峰, 雷坤, 杨丽标	(5400)
多种同位素手段的硝酸盐污染源解析: 以会仙湿地为例	彭聪, 潘晓东, 焦友军, 任坤, 曾洁	(5410)
典型岩溶槽谷区土壤水 δD 和 δ ¹⁸ O 时空分布特征: 以重庆市中梁山岩溶槽谷为例	吴韦, 蒋勇军, 贾亚男, 彭学义, 段世辉, 刘九缠, 王正雄	(5418)
沁河冲洪积扇地下水水化学特征及成因分析	刘江涛, 蔡五田, 曹月婷, 蔡月梅, 边超, 吕永高, 陈远铭	(5428)
2017 年最大降水对再生水受水河道径流组成的影响	廖安然, 宋献方, 张应华, 杨丽虎, 卜红梅, 马英, 韩冬梅, 秦文婧, 杨胜天	(5440)
周村水库主库区水体热分层形成过程中沉积物间隙水 DOM 的光谱演变特征	周石磊, 张艺冉, 黄廷林, 李再兴, 罗晓	(5451)
三峡库区沉积物中镍污染特征评价	张伟杰, 殷淑华, 徐东昱, 高丽, 高博	(5464)
四面山大洪湖底泥/水界面汞的迁移转化规律	郭攀, 孙涛, 杨光, 马明	(5473)
大兴安岭南麓湿地类型对土壤中甲基汞分布的影响	周心劝, 刘玉荣, 李晶, 周志峰	(5480)
模拟三峡库区消落带土壤有机磷酸酯类水释放特征	杨婷, 何明靖, 杨志豪, 魏世强	(5487)
典型旅游城市河流水体及污水厂出水中全氟烷基酸类化合物的空间分布及其前体物的转化	王世亮, 孙建树, 杨月伟, 张敏	(5494)
4 种不同工况生物滤池净化效能与微生物特性分析	江肖良, 李孟, 张少辉, 张世羊	(5503)
微量元素锰对威氏海链藻生长及叶绿素荧光的影响	王木兰, 姜玥璐	(5514)
广东省水库拟柱胞藻 (<i>Cylindropermopsis raciborskii</i>) 的分布特征及影响因子分析	雷敏婷, 彭亮, 韩博平, 雷腊梅	(5523)
磁性壳聚糖接枝聚丙烯酰胺去除水体中腐殖酸	尤雯, 刘海成, 曹家玮, 沈耀良, 陈卫	(5532)
臭氧-生物活性炭对微污染原水中典型持久性有机物的去除效果	兰亚琼, 刘锐, 马正杰, 陈吕军	(5541)
水解酸化/AO 组合工艺处理印染废水色度去除与脱氮性能	顾梦琪, 尹启东, 刘爱科, 吴光学	(5550)
“异养-硫自养”组合工艺去除高浓度高氯酸盐特性	刘颖男, 陶华强, 宋圆圆, 张春青, 逯彩彩, 韩懿, 李海波, 郭建博	(5558)
静压快速启动亚硝酸盐依赖型甲烷厌氧氧化反应	王一因, 胡振, 茹东云, 姜丽萍, 刘华清	(5565)
多级 AO 耦合流离生化工艺流量分配比优化及脱氮机制	王帆, 李军, 边德军, 聂泽兵, 张莉, 孙艺齐	(5572)
主流条件下两级式 PN-ANAMMOX 工艺的高效能脱氮过程	刘文如, 杨殿海, 沈耀良, 王建芳, 吴鹏, 钱飞跃, 陈重军	(5580)
不同基质浓度对 ANAMMOX 菌短期储存的影响	高雪健, 张杰, 李冬, 曹正美, 郭跃洲, 李帅	(5587)
主流厌氧氨氧化工艺的优化及其微生物的群落变迁	付昆明, 李慧, 姜姗, 仇付国, 曹秀芹	(5596)
厌氧氨氧化污泥恢复过程中的颗粒特性	陈方敏, 顾澄伟, 胡羽婷, 黄勇, 李祥, 陆明羽, 方文辉, 金润	(5605)
低温反硝化菌——施氏假单胞菌 N3 的筛选及脱氮性能	路俊玲, 陈慧萍, 肖琳	(5612)
复垦工业场地土壤和周边河道沉积物重金属污染及潜在生态风险	吴健, 王敏, 张辉鹏, 黄宇驰, 徐志豪, 李青青, 陈昊, 黄沈发	(5620)
不同土地利用类型土壤重金属生态风险与人体健康风险	李春芳, 曹见飞, 吕建树, 姚磊, 吴泉源	(5628)
某大型神渣场土壤 As 污染特征及生态风险评价	刘庚, 石瑛, 田海金, 李豪, 张蕾, 牛俊杰, 郭观林, 张朝	(5639)
亚热带典型岩溶水库细菌丰度和细菌生产力及其与环境因子的关系	辛胜林, 梁月明, 彭文杰, 宋昂, 靳振江, 朱美娜, 李强	(5647)
岩溶区典型灌丛植物根系丛枝菌根真菌群落结构解析	梁月明, 苏以荣, 何寻阳, 陈香碧	(5657)
模拟氮沉降对干旱半干旱温带草原土壤细菌群落结构的影响	李宗明, 沈菊培, 张丽梅, 刘国平, 白文明, 贺纪正	(5665)
添加磷素对低磷稻田根际土壤固碳自养微生物数量的影响	柏菁, 李奕霏, 刘守龙, 祝贞科, 李科林, 彭佩钦, 吴小红, 葛体达, 吴金水	(5672)
长期不同施肥对稻田土壤有机碳矿化及激发效应的影响	马欣, 魏亮, 唐美玲, 徐福利, 祝贞科, 葛体达, 吴金水	(5680)
黄土丘陵区撂荒恢复过程中植物群落组成与土壤养分及酶活性变化的关系	乔文静, 戴银月, 张伟, 付淑月, 杨改河, 韩新辉, 陈正兴, 高德新, 冯永忠	(5687)
生活垃圾不同填埋阶段的富里酸对五氯苯酚的降解	刘思佳, 何小松, 张慧, 祖国峰, 席北斗, 李丹, 党秋玲	(5699)
CO ₂ 倍增条件下不同生育期水稻碳氮磷含量及其计量比特征	唐美玲, 肖谋良, 袁红朝, 王光军, 刘守龙, 祝贞科, 葛体达, 吴金水	(5708)
基于层次分析法的医疗废物处置技术评价	许晓芳, 谭全银, 刘丽丽, 李金惠	(5717)
中国农田畜禽粪尿氮负荷量及其还田潜力	刘晓永, 王秀斌, 李书田	(5723)
《环境科学》第 39 卷(2018 年)总目录		(5740)
《环境科学》征订启事(5343)		
《环境科学》征稿简则(5439)		
信息(5595, 5619, 5638)		

微量元素锰对威氏海链藻生长及叶绿素荧光的影响

王木兰^{1,2}, 姜玥璐^{1,2*}

(1. 清华大学环境学院, 北京 100084; 2. 清华大学深圳研究生院, 深圳 518055)

摘要: 微藻和高等植物的光系统 II 中的放氧复合体 (oxygen-evolving complex, OEC) 是裂解水与释放氧气、质子和电子的部位, 其中水裂解的反应中心由 4 个锰原子组成的锰簇构成. 叶绿素荧光诱导动力学分析技术是研究光合作用特征的有效方法, 可以指示不同环境压力下光系统各构件的变化. 利用该技术研究了锰添加 ($0 \sim 9\,000\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Mn}$) 对威氏海链藻 (*Conticribra weissflogii*) 生长及叶绿素荧光特性的影响. 结果表明, 除最高浓度锰 ($9\,000\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Mn}$) 外, 其余浓度锰对威氏海链藻生长的影响均不显著; 锰对威氏海链藻叶绿素荧光参数的影响与锰添加的浓度范围有关, 且随培养时间的增加而增强; 其中, 较低浓度锰 ($90\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Mn}$) 对各叶绿素荧光参数都呈现了强影响效果. 尽管锰可能不是威氏海链藻生长的限制因子, 但是锰从两方面促进了其光合作用: ① 促进光系统 II 供体侧 OEC 结构的完整性和从 OEC 到电子传递中间体 Tyr 之间的电子传递; ② 促进光系统 II 受体侧的能量转化和 Q_A 之后的电子传递. 研究还发现, 光合作用中与能量转化相关的荧光参数和活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 之间呈显著相关 ($P < 0.01$), 表明锰在威氏海链藻光合作用过程及 ROS 的产生中都扮演着重要角色.

关键词: 锰; 威氏海链藻 (*C. weissflogii*); 生长; 叶绿素荧光; 活性氧

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)12-5514-09 DOI: 10.13227/j.hjxx.201804001

Effects of Manganese on the Growth and Fluorescence Induction Kinetics of *Conticribra weissflogii*

WANG Mu-lan^{1,2}, JIANG Yue-lu^{1,2*}

(1. School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 2. Graduate School at Shenzhen, Tsinghua University, Shenzhen 518055, China)

Abstract: The manganese (Mn_4) cluster, as a part of the oxygen-evolving complex (OEC) in the photosystem II (PS II) of microalgae and plants, assists in the electrolysis of water to oxygen, protons, and electrons. To examine the relationships among manganese (Mn) concentrations in the culture medium, algae growth, and chlorophyll fluorescence characteristics, we exposed the diatom *Conticribra weissflogii* to a broad range of Mn concentrations from 0 to $9\,000\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Chlorophyll fluorescence induction dynamics analysis, an effective way to investigate photosynthetic characteristics, can be used as indicator of the photosynthetic apparatus of photosynthesizers under different stressors. Here, we studied the effects of Mn exposure on *C. weissflogii* using this fluorescence analysis method. The results show that the growth of *C. weissflogii* is independent of the Mn exposure at concentrations below $9\,000\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Moreover, chlorophyll fluorescence parameters of *C. weissflogii* respond to exposed Mn concentrations, whereby the strongest induction occurred at $90\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Mn}$ and the responses are enhanced over time. Although Mn in culture media may not be a major limiting factor of the growth of *C. weissflogii*, it significantly enhances the photosynthesis of *C. weissflogii* via two ways. First, Mn improves the integrity of the OEC structure and electron transfer from OEC to Tyr on the donor side of PS II; second, Mn also enhances the energy transfer and electron transport after reaching the primary quinone acceptor (Q_A) on the acceptor side of PS II. Energy transfer-related fluorescence parameters are positively correlated with the level of ROS in *C. weissflogii*, indicating that Mn plays an important role in both photosynthesis processes and reactive oxygen species (ROS) production.

Key words: manganese; *Conticribra weissflogii*; growth; chlorophyll fluorescence; reactive oxygen species

微藻利用光合作用将二氧化碳转化成碳氢化合物, 获得藻细胞所需养分、维持生长和增殖, 而其光合作用则依赖于叶绿体膜上的两个光反应系统 (光系统 I 和光系统 II). 早在 20 世纪 30 年代, Hopkins^[1] 的研究首先证明了微量元素锰是浮游植物生长的必需微量营养元素之一. 后续的研究进一步证明锰参与光系统的构成. 在每个光系统 II (photosystem II, PS II) 的反应中心均有 4 个锰原子, 一部分锰可在电荷积累中起直接作用, 其余部

分则作为 OEC 的结构因子^[2]. 微量元素锰除了参与光系统构成外, 也是叶绿素合成过程中以及自由基清除酶促反应中的辅助因子, 常常以超氧化物歧

收稿日期: 2018-04-01; 修订日期: 2018-05-24

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (41506129); 深圳市科技创新委计划项目 (JCYJ20170412171959157, JCYJ20150831192329178, JCYJ20150529164918736)

作者简介: 王木兰 (1994 ~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为海洋浮游植物生理, E-mail: wang-ml15@mails.tsinghua.edu.cn

* 通信作者, E-mail: jiang.yuelu@sz.tsinghua.edu.cn

化酶(superoxide dismutase, SOD)的形式存在,例如,硅藻纲中存在活跃的含锰超氧化物歧化酶 Mn-SOD^[3]. SOD 可以降低活性氧(reactive oxygen species, ROS)对细胞的损伤,维护叶绿体膜结构. 锰对微藻生长也有重要的作用,锰缺乏会影响叶绿素合成,造成光系统功能缺陷,降低 PS II 活性、半乳糖甘油二酯(galactosyl diglyceride)含量以及乙醇酸(glycolate)的合成等^[4, 5]. 一些研究还发现锰和赤潮的形成及暴发紧密相关^[6, 7], 锰浓度的变化甚至还影响微藻的油脂积累^[8].

叶绿素荧光诱导动力学分析技术利用光合生物体内叶绿素荧光作为天然探针,可以无损、快速灵敏地研究光合作用动力学过程,评价 PS II 光能捕获、电子传递和光能损耗等过程的效率和特点^[9]. 这些优点使得该技术也被用来研究逆境对微藻或植物的胁迫作用,如金属、环境污染物、高温等^[10~12]. 现有关于锰对光合作用影响的研究大多集中在高等植物中,如缺锰会影响玉米 PS II 的功能^[13]. 除个别研究外^[14],应用该技术探究锰对微藻光合机制影响的研究还很少.

本研究利用叶绿素荧光诱导动力学分析技术,分析锰添加对威氏海链藻生长、叶绿素荧光特性以及 ROS 的影响;通过 PS II 供体侧和受体侧,揭示锰在微藻光合作用动力学过程中的影响和作用,以期探讨其与 ROS 的关系提供参考依据.

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验用威氏海链藻 *Conticribra weissflogii* (*C. weissflogii*, CCMP1587)是一种海洋模式硅藻,采用 f/2 培养基^[15]对其进行保种并扩大培养. 氯化锰 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Sigma M3634),用超纯水配制成 $900 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的母液存于 4°C 冰箱中待用.

1.2 实验设计

本实验以不添加锰的 f/2 培养基(f/2-Mn)为基础,进行不同锰浓度(0、9、90、900、9 000 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)的培养实验,每组处理 3 个平行样,其中设 0 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn 为对照组. 实验用海水取自深圳大亚湾,经过 0.22 μm 孔径的滤膜 2 次过滤后使用, pH 8.1, 盐度 33‰, 培养温度 20°C , 光照周期 L:D 为 14 h:10 h, 光照度为 4 000 ~ 5 000 lx. 实验培养用 1 L 的 Nalgene 聚碳酸酯瓶,培养藻液体积为 800 mL,每天摇动培养瓶 2 ~ 3 次并随机调换培养瓶位置. 取培养至稳定期的藻细胞

离心悬浮至添加不同锰浓度的培养基中,培养 8 d, 每天定时取样进行细胞生长、叶绿素荧光参数和 ROS 的测试. 各指标的测定及计算结果取 3 个平行样的平均值.

1.3 测定方法

1.3.1 生长测定

微藻细胞密度和 750 nm 光密度具有很好的线性关系^[16], 采用 UV-分光光度计(UV-1780, SHIMADZU)测定藻细胞在 750 nm 处的光密度(optical density, D_{750}),表征威氏海链藻的生长状况. 根据 D_{750} 计算藻细胞的生长速率,计算公式为:

$$\mu(\text{d}^{-1}) = 1/T \times (\ln N_{t+1} - \ln N_t)$$

式中, N_t 表示 t 时 D_{750} ; N_{t+1} 表示在 $t+1$ 时 D_{750} ; T (d) 表示两个时间点的间隔.

1.3.2 叶绿素荧光参数

叶绿素荧光参数采用双调制荧光仪(PSI, Czech Republic)进行 JIP-测定^[9],记录荧光瞬变的时间为 1 s,最初 2 ms 每 10 μs 记录 1 次,之后每 1 ms 记录 1 次. 取 2 mL 经暗适应 15 min 后的样品用荧光仪测定,获得快速叶绿素荧光诱导动力学曲线(OJIP 荧光曲线).

OJIP 荧光曲线反映了暗适应后的样品暴露在光下时,由最低荧光 O 点经历两个荧光拐点 J 点和 I 点,到达荧光最高峰 P 点的荧光过程^[9],主要参数包括: F_0 ,在 50 μs 测定所得的初始荧光值; F_k ,在 300 μs 测定所得的荧光值; F_J 和 F_I 分别是 J 点(2 ms 处)和 I 点(20 ms 处)的荧光值; F_m ,所有反应中心都关闭时即 P 点处的最大荧光值. 叶绿素荧光诱导动力学过程主要参数的计算公式和意义如表 1 所示,其中所有的参数都经过对照组标准化,计算结果是对照组的百分比.

1.3.3 活性氧

采用荧光染料 2,7-二氯二氢荧光素乙酰乙酸(H_2DCFDA , Sigma, D6883)测定藻细胞内的 ROS 含量^[18]. 荧光染料用二甲基亚砜配制成 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 母液置于 -20°C 冰箱备用,用 2 次过滤后的海水将母液配制成工作溶液,现配现用. 样品加染料后,黑暗条件下孵育 60 min(染料最终浓度为 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$);孵育后的样品经清洗 3 次后,用酶标仪测定荧光强度($E_x = 488 \text{ nm}$, $E_m = 525 \text{ nm}$; TECAN, M200 PRO). 测得的荧光值除以该样品的 D_{750} ,得到的标准化荧光值作为活性氧指数.

1.4 数据分析

本实验数据用 Excel 2016 和 OriginPro 2017 作

表 1 JIP-测定所得荧光参数计算公式及符号含义¹⁾

荧光参数和计算公式	意义说明
PS II 反应中心 $ABS/CS_0 = ABS/CS_{chl} = F_0$ $RC/CS = \varphi_{P0} \cdot (V_j/M_0) \cdot ABS/CS$	单位受光面积吸收的光能(在 $t=0$ 时) 单位受光面积上活性的光合作用反应中心的密度
光合作用电子传递 $V_j = (F_j - F_0)/(F_m - F_0)$ $M_0 = 4(F_k - F_0)/(F_m - F_0)$	相对可变荧光(照光 2 ms 时有活性的反应中心关闭程度) 荧光上升的初始斜率(初级醌受体 Q_A 被还原的最大速率)
量子效率和通量比 $\varphi_{P0} = TR_0/ABS = [1 - (F_0/F_m)] = F_v/F_m$ $\varphi_{E0} = ET_0/ABS = [1 - (F_0/F_m)] \cdot \psi_0$ $\psi_0 = ET_0/TR_0 = 1 - V_j$	最大光化学效率(在 $t=0$ 时) 反应中心吸收的光能用于电子传递的量子产量(在 $t=0$ 时) 反应中心捕获的激子中用来推动电子传递到电子链中超过 Q_A 的其它电子受体的激子占用来推动 Q_A 还原激子的比率(在 $t=0$ 时)
光合作用能量吸收与传递 $ABS/RC = M_0 \cdot (1/V_j) \cdot (1/\varphi_{P0})$ $TR_0/RC = M_0 \cdot (1/V_j)$ $ET_0/RC = M_0 \cdot (1/V_j) \cdot \psi_0$ $DI_0/RC = (ABS/RC) - (TR_0/RC)$	单位反应中心吸收的能量 单位反应中心捕获的用于还原 Q_A 的能量(在 $t=0$ 时) 单位反应中心捕获的用于电子传递的能量(在 $t=0$ 时) 单位反应中心耗散掉的能量(在 $t=0$ 时)
性能指数 $PI_{ABS} = (RC/ABS) \cdot [\varphi_{P0}/(1 - \varphi_{P0})] \cdot [\psi_0/(1 - \psi_0)]$ $PI_{CS} = (RC/CS_0) \cdot [\varphi_{P0}/(1 - \varphi_{P0})] \cdot [\psi_0/(1 - \psi_0)]$	以吸收光能为基础的性能指数 受光横截面性能指数

1) 修改自文献[9, 17]中相关资料

图, 用 IBM SPSS Statistics 22 进行统计分析. 组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 若方差齐采用 LSD 法, 若方差不齐采用 Tamhane's T2 法进行多重比较及相关性分析, $P < 0.05$ 则表示差异显著; 二元变量相关分析采用 Pearson 相关系数法.

2 结果与分析

2.1 锰浓度对威氏海链藻生长的影响

锰浓度对威氏海链藻生长曲线和生长速率的影响如图 1 所示. 不同处理组的藻细胞在培养初期均呈指数生长, 第 3 d 稳定期后, 最高浓度锰(9 000 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)的细胞光密度和生长速率均显著高于对照组($P < 0.05$), 而其它锰浓度与对照组之间均无

显著差异($P > 0.05$).

2.2 锰浓度对威氏海链藻叶绿素荧光的影响

2.2.1 锰浓度对威氏海链藻 OJIP 荧光曲线的影响

锰浓度对威氏海链藻 OJIP 荧光曲线的影响如图 2 所示. 由威氏海链藻的生长曲线[图 1(a)]可知, 第 2、4、7 d 时, 藻细胞分别处在指数期、稳定前期和稳定中期, 因此主要选取了这 3 个具有代表性的生长阶段, 对其进行叶绿素荧光分析. 培养初期, 藻细胞光合作用较弱, 荧光曲线趋于一条直线, 不同锰浓度下的 OJIP 荧光曲线未呈现差别. 第 2、4、7 d 时, 90 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn 处理组的 OJIP 曲线荧光强度最高; $\leq 90 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn 各组的荧光曲线强度随锰浓度的升高而上升; $\geq 90 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn 各

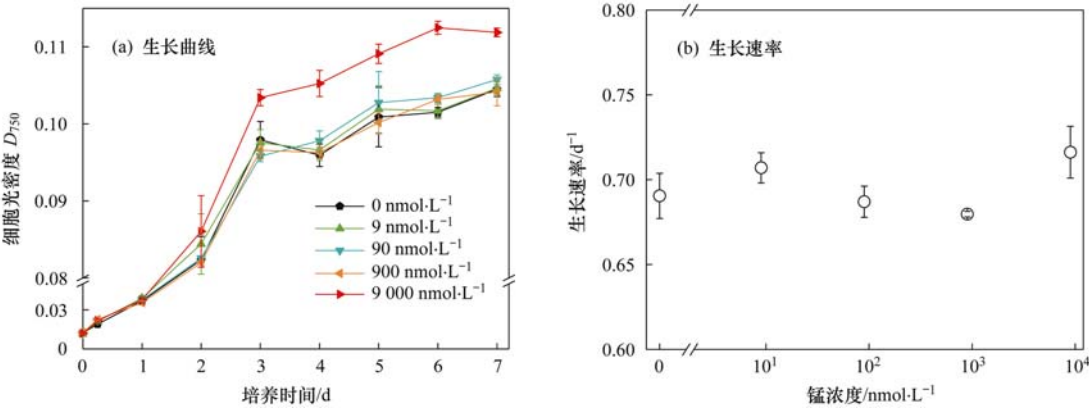


图 1 锰浓度对威氏海链藻生长的影响

Fig. 1 Growth curves and growth rates of *C. weissflogii* under Mn treatment

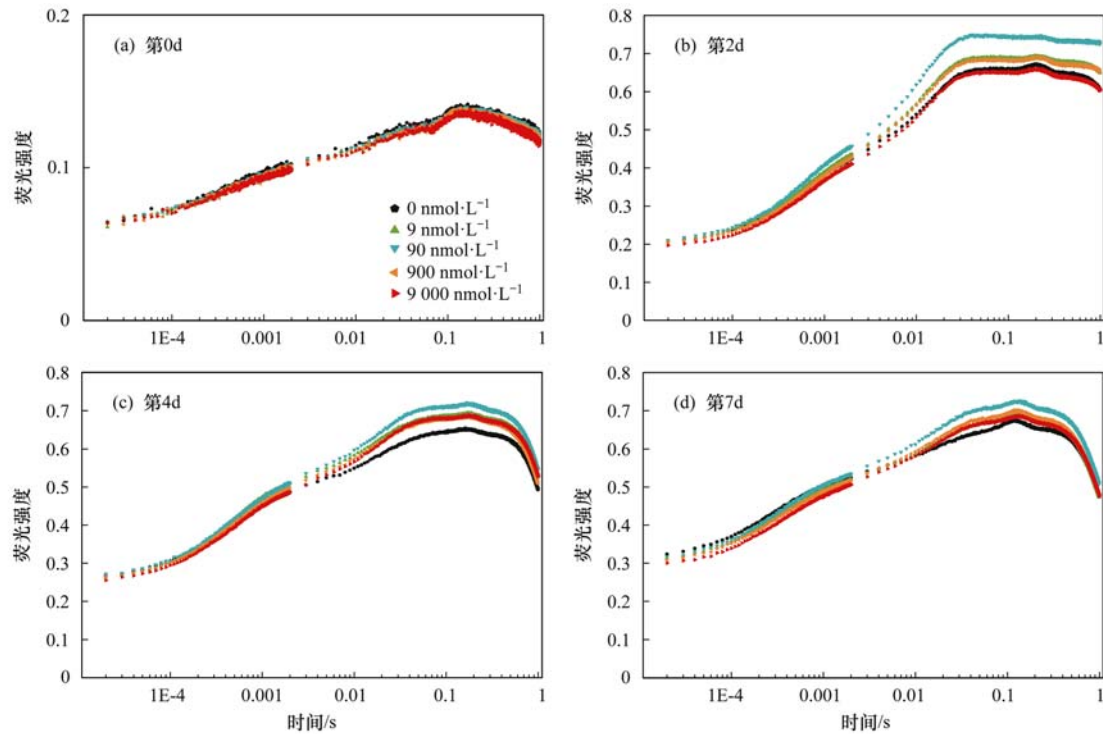


图2 不同锰浓度处理下威氏海链藻的 OJIP 荧光曲线变化
Fig. 2 OJIP fluorescence curves of *C. weissflogii* under Mn treatment

组的荧光曲线强度在第 2 d 随锰浓度的升高而下降, 在第 4、7 d 则无明显差别。

从 $0 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn 处理组的荧光曲线可以观察到“K 相”的出现, 随着时间的推移“K 相”越明显, 如图 3 给出了第 7 d 时, $0 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn 与 $9000 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn 两个处理组 OJIP 荧光曲线对比的“K 相”图(“K 相”指的是在 J 点之前, 大约在 $300 \mu\text{s}$ 处出现的一个特征阶段)。

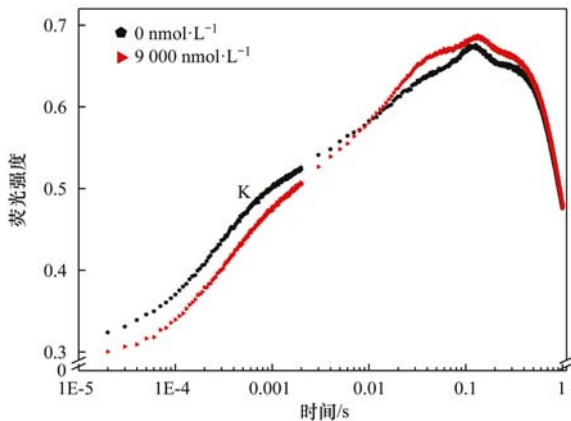


图3 第 7 d 威氏海链藻 OJIP 荧光曲线最低与最高锰浓度的“K 相”对比
Fig. 3 Phase K of OJIP fluorescence curves of *C. weissflogii* under treatment with $0 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn and $9000 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn on day 7

2.2.2 锰浓度对威氏海链藻叶绿素浓度和 PS II 活性反应中心密度的影响

锰浓度对威氏海链藻叶绿素荧光参数的影响如图 4 所示, 锰添加对各荧光参数的影响随培养时间的增加而增强。图中 F_0 (初始荧光), 是初始单位受光截面的光子通量 (ABS/CS_0), 也表征藻细胞的叶绿素浓度^[19]。第 7 d 时, $9000 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn 显著降低了 F_0 ($P < 0.05$), 而其余锰浓度对 F_0 的影响不显著 ($P > 0.05$)。

锰添加的所有浓度均提高了 PS II 活性反应中心的密度 (RC/CS_0), 且促进作用随培养时间的增加逐渐增强。其中 $90 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn 的促进作用最大, 增幅高达 20% ($P < 0.05$)。

2.2.3 锰浓度对威氏海链藻光合作用电子传递的影响

本实验结果表明, 锰浓度对相对可变荧光 (V_j) 没有显著性影响 ($P > 0.05$)。但是锰添加降低了藻细胞荧光上升的初始斜率 (M_0), 尤其在第 7 d 时, 抑制作用显著且随锰浓度的增加而增强 ($P < 0.05$)。

锰添加提高了藻细胞最大光化学效率 (F_v/F_m) 和反应中心吸收的光能用于电子传递的量子产量 (ϕ_{E0})。第 7 d 时, ϕ_{E0} 随着锰浓度的升高呈上升趋势, 且显著高于对照组 ($P < 0.05$)。锰添加还提高

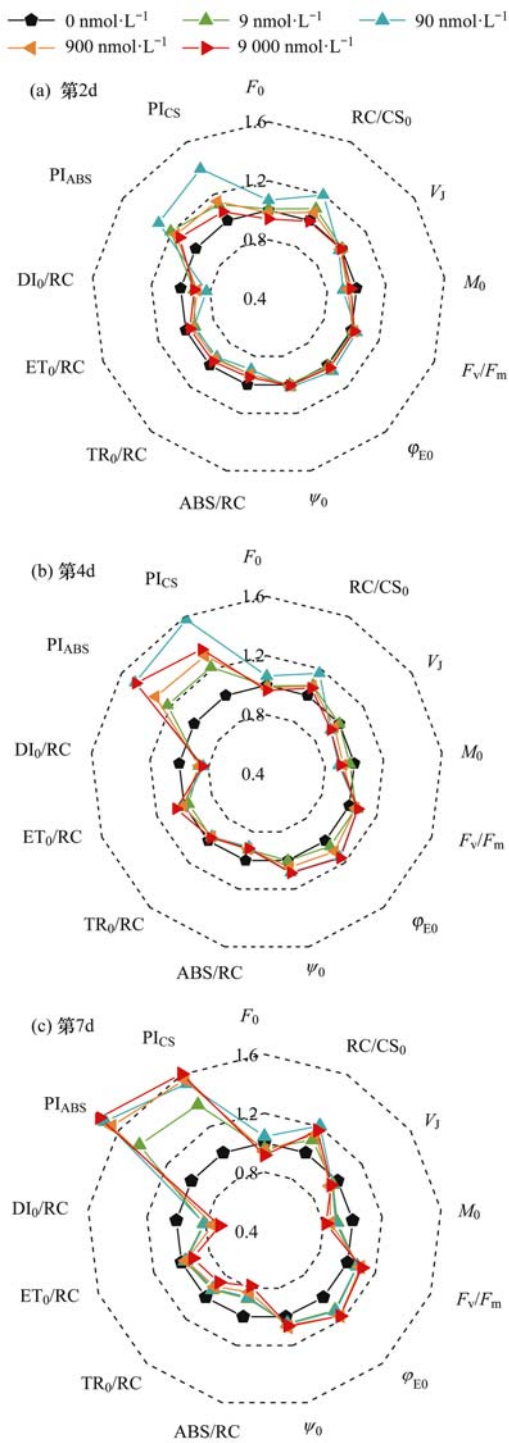


图4 不同锰浓度处理下威氏海链藻的叶绿素荧光参数变化
Fig. 4 Chlorophyll fluorescence induction parameters of *C. weissflogii* under Mn treatment

了用于初级醌受体 Q_A 之后电子传递链激子的比率 (ψ_0), 但提高程度不显著 ($P > 0.05$).

2.2.4 锰浓度对威氏海链藻光合作用能量吸收与传递的影响

微藻和植物光合作用过程中能量的吸收与传递主要包括 4 部分: ①反应中心吸收光能量 (ABS/

RC); ②被吸收的光能, 一部分被捕获用于光合作用 (TR_0/RC); ③一部分以热耗散的形式消耗 (DI_0/RC); ④捕获的能量 (TR_0/RC) 被进一步传递到光合电子传递链中 (ET_0/RC). 本实验发现, 在藻细胞不同生长时期, 锰添加均显著降低了单位光合作用反应中心对光能的吸收 (ABS/RC), 以及藻细胞以热耗散方式损失的能量 (DI_0/RC) ($P < 0.05$).

第 7 d 时, 锰添加对藻细胞光合作用能量吸收与传递过程中的 4 部分能量均产生了抑制作用, 且随着锰浓度的增加而逐渐增强.

2.2.5 锰浓度对威氏海链藻光能吸收性能和受光截面性能的影响

各浓度锰添加均促进了威氏海链藻光能吸收性能 (PI_{ABS}) 和受光横截面性能 (PI_{CS}), 且促进作用随培养时间的增加而增强. 第 2、4 d 时, $90 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn 的促进作用最强; 第 7 d 时, 则是 $9000 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn 的促进作用最强.

2.3 锰浓度对威氏海链藻活性氧的影响

锰浓度对威氏海链藻 ROS 含量的影响如图 5 所示. 第 2 d 时, ROS 含量基本随着锰添加浓度的增加而显著降低 ($P < 0.05$); 在生长稳定期 (第 4、7 d), 总的来说, 锰添加对 ROS 含量呈抑制趋势 (第 7 d 时 $900 \sim 9000 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn 除外).

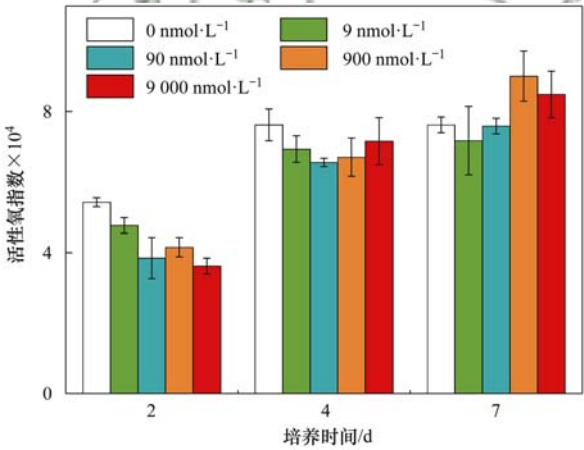


图5 锰浓度对威氏海链藻活性氧含量的影响
Fig. 5 ROS content of *C. weissflogii* under Mn treatment

3 讨论

3.1 锰浓度对威氏海链藻生长的影响

本研究发现只有最高浓度 $9000 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn 对威氏海链藻生长有显著促进作用 (图 1), 这与莱茵藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*, $100 \sim 25000 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn) 和微囊藻 (*Microcystis*, $1000 \sim 10000 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn) 对锰的响应结果相近^[5, 20]. 有

些藻种仅需要低浓度锰就可以被促进生长,尤其是赤潮藻类,如 $10^{-3} \sim 10 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Mn}$ 促进了有毒赤潮甲藻米氏凯伦藻 (*Karenia mikimotoi*) 生长, $900 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Mn}$ 促进了塔玛亚历山大藻 (*Alexandrium tamarense*) 生长^[7, 14]. 由此可见,微量元素锰可能是触发赤潮的重要因子之一^[6].

天然海水中微量元素锰浓度范围为 $0.05 \sim 182 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[21, 22], 可能仅限制某些特定微藻的生长, 如上述米氏凯伦藻、塔玛亚历山大藻等; 对于威氏海链藻、微囊藻等藻种来说, 则可能不受限制. 锰添加对不同藻种生长的影响机制研究较少, 微藻对锰添加的响应机制是否与光系统结构或光合色素的组成有关也尚未清楚.

3.2 锰浓度对威氏海链藻 PS II 供体侧的影响

尽管除最高浓度外, 锰对威氏海链藻生长的影响不显著, 但其对光系统有显著影响. 锰在 PS II 的电子供体中发挥着不可缺少的作用, 每个 PS II 的 OEC 结合 4 个锰原子形成的锰簇, 同时可裂解 2 个水分子生成 4 个 H^+ 、1 个 O_2 分子和 4 个电子, 产生的电子经电子传递中间体 Tyr(特殊酪氨酸分子)传递供给 PS II 的反应中心. 本研究发现 $0 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Mn}$ 处理组的荧光曲线产生了“K 相”. “K 相”通常是由于从 OEC 到 Tyr 的电子传递过程受到抑制造成的, 而这种抑制通常是由 OEC 损伤所引发的^[23]. 本研究中“K 相”的出现说明锰缺失可导致 OEC 的合成受损, 使得威氏海链藻 PS II 受体侧与供体侧之间的电子流动不平衡. 电子流动的不平衡则会进一步导致 PS II 反应中心被过剩电子氧化^[24]. 因此, 低浓度锰虽然并没有显示出对威氏海链藻生长的抑制, 但和 $0 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Mn}$ 相比较, 锰添加 ($9 \sim 9000 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Mn}$) 改善了藻细胞 PS II 供体侧电子传递受抑制的不平衡状况, 有利于维护威氏海链藻 PS II 供体侧结构的完整性和电子传递.

3.3 锰浓度对威氏海链藻 PS II 受体侧的影响

OJIP 荧光曲线可以反映 PS II 电子受体库 Q_A 、 Q_B 及 PQ 库的状态^[25]. 本研究发现, 锰添加对威氏海链藻的 OJIP 荧光曲线有促进作用, 有助于 PS II 受体侧电子受体库容量增大; 受体容量库增大使得传递到电子传递链的电子超过 Q_A 的电子受体的概率 (φ_{E0}) 上升; 同时热耗散 (DI_0/RC) 的降低以及光能转化效率 (F_v/F_m) 的提高, 可使被捕获的光能更多用于光化学反应, 而不是 Q_A 的还原; 而用于 Q_A 还原能量的降低, 可使 Q_A 还原 (M_0) 减速, 进而有

利于电子受体 Q_A 后的电子传递. 研究还发现, 锰添加也通过增加藻细胞 PS II 的活性反应中心密度 (RC/CS_0), 以及提高威氏海链藻光能吸收和受光横截面性能 (PI_{ABS} 和 PI_{CS}), 来促进光合作用. 总的来说, 锰添加有利于威氏海链藻 PS II 受体侧的能量转化和电子传递.

叶绿素含量及活性反应中心数量直接关系到光合作用的光能转化, 适量锰的存在有利于维持和完善藻类叶绿体形状和类囊体结构, 保证正常的光合色素比例^[26]. 本研究中, $90 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Mn}$ 对活性反应中心密度 (RC/CS_0) 的促进作用最强 ($P < 0.05$), 对叶绿素浓度 (F_0) 也有一定促进作用, 表明该浓度可能更有利于威氏海链藻合成叶绿素, 提高藻细胞对光能的吸收、传递和转化. 曹春晖等^[14]对米氏凯伦藻的研究也表明, $10 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Mn}$ 最有利于该甲藻叶绿素的合成, 比本研究中锰对威氏海链藻的最适浓度低. 然而, 显著促进威氏海链藻生长的 $9000 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Mn}$, 则抑制了藻细胞 F_0 . 高浓度锰可能因为抑制了叶绿素合成所必需元素 Mg、Fe 等的吸收, 从而阻碍叶绿素的合成^[27, 28]. 前人对米氏凯伦藻和垂序商陆 (*Phytolacca americana* L.) 植物的研究发现^[14, 29], 在高锰胁迫下其叶绿素含量也有所降低, 与本研究结果相近.

3.4 叶绿素荧光与活性氧的关系

本研究发现, 锰添加提高了光合作用 (图 4), 同时抑制了 ROS 含量 (图 5), 因此对威氏海链藻叶绿素荧光与 ROS 的关系进行了分析, 结果如图 6、表 2 所示. 威氏海链藻的最大光化学效率 (F_v/F_m)、光能吸收性能 (PI_{ABS}) 以及受光截面性能 (PI_{CS}) 与 ROS 均呈显著负相关 [所有 $P < 0.01$, 图 6 (a)], 而光合作用过程中与能量吸收、传递相关的多个参数: 单位反应中心吸收的能量 (ABS/RC)、捕获的能量 (TR_0/RC) 以及热耗散的能量 (DI_0/RC) 均与 ROS 呈显著正相关 [所有 $P < 0.01$, 图 6 (b)]. 总的来说, 锰添加降低了藻细胞的 ROS 含量, 影响了藻细胞光合作用的能量吸收与传递.

在光合生物体内, ROS 的产生和光合作用是密不可分的. 由于光合生物的光合电子传递链的各组成部分都嵌合在叶绿体类囊体膜中, 而叶绿体同时也是水裂解生成氧气的场所. 叶绿体这两个过程的存在, 使得叶绿体中氧气和大量的电子不可避免会相遇, 进而产生超氧根阴离子 (O_2^-). 超氧根阴离子通过酶促反应歧化成氧气 (O_2) 和过氧化氢 (H_2O_2), 最终通过金属介导的 Haber-Weiss 反应产

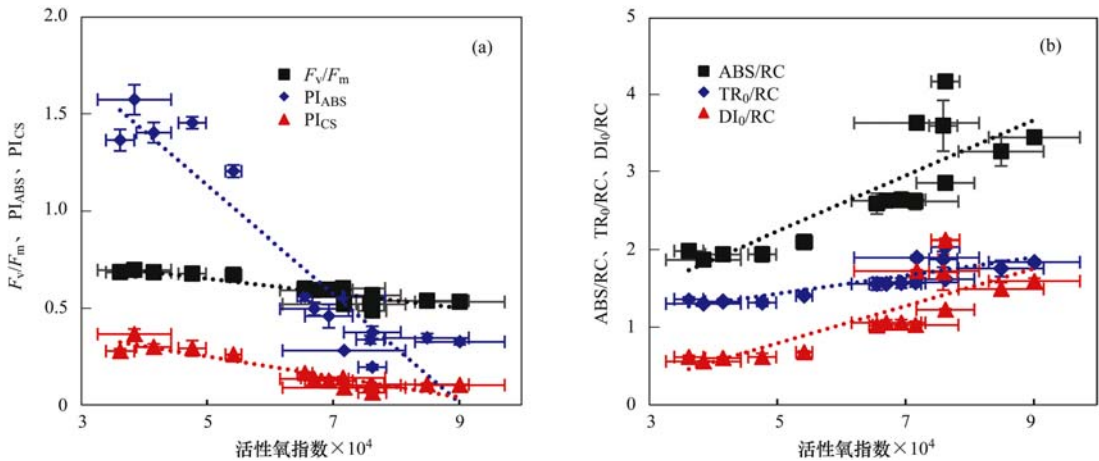


图 6 叶绿素荧光和活性氧之间的关系

Fig. 6 Relationship between chlorophyll fluorescence induction parameters and the ROS activity index

表 2 威氏海链藻活性氧与叶绿素荧光参数的相关系数¹⁾

Table 2 Correlation analysis between chlorophyll fluorescence induction parameters and ROS of *C. weissflogii*

参数	F_v/F_m	PI_{ABS}	PI_{CS}	ABS/RC	TR_0/RC	DI_0/RC
ROS	-0.865 **	-0.882 **	-0.892 **	0.797 **	0.802 **	0.791 **

1) ** 表示相关系数在 0.01 的水平上达到显著

生高活性的氧化物($HO\cdot$)^[30, 31]. 所以, 即便在非胁迫状态, 光合生物的正常生理代谢过程中也会产生 ROS. 环境胁迫条件下, 光合生物产生的活性氧超出清除和耐受能力时, 活性氧便会对光合生物 PS II 造成损伤、失活和光抑制, 影响正常的生理功能.

微藻吸收的光能, 如果无法用于光合作用、无法进入电子传递或者无法通过热耗散损失掉, 就会成为过剩能量; 这部分过剩能量, 可能以 ROS 的形式聚集并影响光合作用多个过程, 最终对 PS II 造成损伤. 对叶绿素荧光与活性氧关系的分析表明, 一方面, 威氏海链藻细胞内 ROS 的累积, 能造成 F_v/F_m 下降, 抑制光能吸收性能和光化学反应能力. 另一方面, 锰添加降低了以热耗散形式损失的能量, 使被捕获的光能更多用于光合作用, 提高光能转化效率, 并降低了 ROS 的含量, 或提高了细胞对 ROS 的消除能力.

光合生物通过增强叶绿体对氧化物的抵抗力来提高对 ROS 的耐受能力. 在这个过程中, 超氧化物歧化酶(SOD)由于能够清除细胞中多余的超氧根离子, 成为了光合生物抗氧化的重要防线^[3]. 俞慧娜等^[32]发现, 一定浓度锰可提高大豆体内活性氧的清除和抗逆能力, 促进光合作用. 已有研究对威氏海链藻 Mn-SOD 基因进行克隆、表达和特性序列分析, 发现该 Mn-SOD 的存在可能降低 ROS 对光系统

的损伤^[31], 但影响 Mn-SOD 表达的环境因子仍缺乏研究. 本研究锰添加降低了 ROS 的含量, 也可能通过提高微藻合成 Mn-SOD 的能力, 从而提高 ROS 的清除能力, 降低 ROS 含量, 减弱其对威氏海链藻光系统的损伤, 促进光合作用反应中心将更多的能量转化并用于光化学反应.

4 结论

(1) 锰添加有利于海洋微藻进行光合作用, 微量元素锰对威氏海链藻光合作用的影响大于对生长的影响, 且对光合作用的促进效果随培养时间的增加而增强. 在第 2、4 d, 较低浓度 $90\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Mn 对微藻的光合作用呈现了最强促进作用.

(2) 锰对威氏海链藻光合作用的促进机制, 可能通过同时影响 PS II 供体侧和受体侧来实现: 一方面锰添加可以促进 OEC 的合成, 防止“K 相”的产生, 保证 PS II 供体侧结构的完整性和电子传递; 另一方面, 锰添加又促进了 PS II 受体侧的能量转化和电子传递.

(3) 威氏海链藻光合作用中与能量相关的荧光参数和 ROS 之间的显著相关关系, 揭示了 ROS 在锰添加促进光合作用的过程中扮演着重要角色.

参考文献:

[1] Hopkins E F. The necessity and function of manganese in the growth of *Chlorella* sp. [J]. Science, 1930, 72 (1876): 609-610.

- [2] Ferreira K N, Iverson T M, Maghlaoui K, *et al.* Architecture of the photosynthetic oxygen-evolving center[J]. *Science*, 2004, **303**(5665): 1831-1838.
- [3] Wolfe-Simon F, Grzebyk D, Schofield O, *et al.* The role and evolution of superoxide dismutases in algae[J]. *Journal of Phycology*, 2005, **41**(3): 453-465.
- [4] O'Kelley J C. Mineral nutrition of algae[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1968, **19**: 89-112.
- [5] Allen M D, Kropat J, Tottey S, *et al.* Manganese deficiency in *Chlamydomonas* results in loss of photosystem II and MnSOD function, sensitivity to peroxides, and secondary phosphorus and iron deficiency[J]. *Plant Physiology*, 2007, **143**(1): 263-277.
- [6] 林昱, 陈孝麟, 唐森铭, 等. 围隔生态系中可溶性锰对两种形成赤潮藻类增殖的影响[J]. *海洋学报*, 1993, **15**(4): 91-97.
- [7] 黄邦钦, 徐鹏, 胡海忠, 等. 单种及混合培养条件下 Fe、Mn 对赤潮生物塔玛亚历山大藻 (*Alexandrium tamarense*) 生长的影响[J]. *环境科学学报*, 2000, **20**(5): 537-541.
Huang B Q, Xu P, Hu H Z, *et al.* Effects of Fe and Mn on growth and cell size of *Alexandrium tamarense* under different culture conditions[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2000, **20**(5): 537-541.
- [8] 袁程, 刘君寒, 任晓慧, 等. 锰离子对斜生栅藻 DHD-3 的生长和油脂积累的调控作用[J]. *海洋科学*, 2012, **36**(2): 62-66.
Yuan C, Liu J H, Ren X H, *et al.* Regulation of Mn ion on the growth and lipid accumulation of microalga *Scenedesmus obliquus* DHD-3[J]. *Marine Sciences*, 2012, **36**(2): 62-66.
- [9] Yunus M, Pathre U, Mohanty P, *et al.* Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaptation[M]. London: Taylor & Francis, 2000. 445-483.
- [10] Kumar K S, Dahms H U, Lee J S, *et al.* Algal photosynthetic responses to toxic metals and herbicides assessed by chlorophyll *a* fluorescence[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2014, **104**: 51-71.
- [11] Pan X L, Deng C N, Zhang D Y, *et al.* Toxic effects of amoxicillin on the photosystem II of *Synechocystis* sp. characterized by a variety of in vivo chlorophyll fluorescence tests[J]. *Aquatic Toxicology*, 2008, **89**(4): 207-213.
- [12] Lu C M, Zhang J H. Heat-induced multiple effects on PSII in wheat plants[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2000, **156**(2): 259-265.
- [13] Jiang C D, Gao H Y, Zou Q. Characteristics of photosynthetic apparatus in Mn-starved maize leaves[J]. *Photosynthetica*, 2002, **40**(2): 209-213.
- [14] 曹春晖, 孙世春, 王学魁, 等. 锰浓度对米氏凯伦藻叶绿素荧光特性及生长的影响[J]. *生态学报*, 2010, **30**(19): 5280-5288.
Cao C H, Sun S C, Wang X K, *et al.* Effects of manganese concentrations on the chlorophyll fluorescence characteristics and growth of *Karenia mikimotoi*[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, **30**(19): 5280-5288.
- [15] Guillard R R, Ryther J H. Studies of marine planktonic diatoms: I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 1962, **8**(2): 229-239.
- [16] Jiang Y L, Yoshida T, Quigg A. Photosynthetic performance, lipid production and biomass composition in response to nitrogen limitation in marine microalgae[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2012, **54**: 70-77.
- [17] 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[J]. *植物生理与分子生物学报*, 2005, **31**(6): 559-566.
Li P M, Gao H Y, Strasser R J. Application of the fast chlorophyll fluorescence induction dynamics analysis in photosynthesis study[J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2005, **31**(6): 559-566.
- [18] Yin L Y, Huang J Q, Huang W M, *et al.* Microcystin-RR-induced accumulation of reactive oxygen species and alteration of antioxidant systems in tobacco BY-2 cells[J]. *Toxicon*, 2005, **46**(5): 507-512.
- [19] Bussotti F, Strasser R J, Schaub M. Photosynthetic behavior of woody species under high ozone exposure probed with the JIP-test: a review[J]. *Environmental Pollution*, 2007, **147**(3): 430-437.
- [20] 马小妮, 薛文通, 魏军艳, 等. 铁、锰对微囊藻生长及产毒的影响[J]. *农业工程技术(农产品加工)*, 2007, (7): 60-63.
Ma X N, Xue W T, Wei J Y, *et al.* Effects of Fe and Mn on the growth of *microcystis aeruginosa* and production of microcystins[J]. *Agriculture Engineering Technology (Agricultural Product Processing)*, 2007, (7): 60-63.
- [21] Biller D V, Bruland K W. Analysis of Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, and Pb in seawater using the Nobias-chelate PA1 resin and magnetic sector inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)[J]. *Marine Chemistry*, 2012, **130-131**: 12-20.
- [22] Williams M, Todd G D, Roney N, *et al.* Toxicological profile for manganese[R]. Atlanta, GA: United States Department of Health and Human Services, Public Health Service, 2012. 402-403.
- [23] Guissé B, Srivastava A, Strasser R J. The polyphasic rise of the chlorophyll *a* fluorescence (O-K-J-I-P) in heat-stressed leaves[J]. *Archives Des Sciences*, 1995, **48**: 147-160.
- [24] Strasser B J. Donor side capacity of photosystem II probed by chlorophyll *a* fluorescence transients[J]. *Photosynthesis Research*, 1997, **52**(2): 147-155.
- [25] Srivastava A, Strasser R J, Govindjee. Polyphasic rise of chlorophyll *a* fluorescence in herbicide-resistant D1 mutants of *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Photosynthesis Research*, 1995, **43**(2): 131-141.
- [26] 王琳, 刘冉, 李文慧, 等. 不同重金属离子胁迫对斜生栅藻生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. *生态与农村环境学报*, 2015, **31**(5): 743-747.
Wang L, Liu R, Li W H, *et al.* Effects of stresses of different heavy metals on growth and chlorophyll fluorescence of *Scenedesmus obliquus*[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2015, **31**(5): 743-747.
- [27] Le Bot J, Goss M J, Carvalho M J G P R, *et al.* The significance of the magnesium to manganese ratio in plant tissues for growth and alleviation of manganese toxicity in tomato (*Lycopersicon esculentum*) and wheat (*Triticum aestivum*) Plants[J]. *Plant and Soil*, 1990, **124**(2): 205-210.
- [28] Hauck M, Paul A, Gross S, *et al.* Manganese toxicity in epiphytic lichens: chlorophyll degradation and interaction with

- iron and phosphorus [J]. Environmental and Experimental Botany, 2003, **49**(2): 181-191.
- [29] 梁文斌, 薛生国, 沈吉红, 等. 锰胁迫对垂序商陆光合特性及叶绿素荧光参数的影响[J]. 生态学报, 2010, **30**(3): 619-625.
- Liang W B, Xue S G, Shen J H, *et al.* Effects of manganese stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence parameters of *Phytolacca americana* [J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, **30**(3): 619-625.
- [30] Harber F, Weiss J. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts[J]. Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences, 1934, **147**(861): 332-351.
- [31] Ken C F, Hsiung T M, Huang Z X, *et al.* Characterization of Fe/Mn-superoxide dismutase from diatom *Thalassiosira weissflogii*: cloning, expression, and property [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, **53**(5): 1470-1474.
- [32] 俞慧娜, 徐根娣, 杨卫韵, 等. 锰处理对大豆生理特性的影响[J]. 河南农业科学, 2005, **34**(7): 35-38.
- Yu H N, Xu G D, Yang W Y, *et al.* Effects of manganese on physiological characteristics of soybean [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2005, **34**(7): 35-38.

环 境 科 学

CONTENTS

Patterns of Mortality from Air Pollutant Emissions in China's Coal-fired Power Plants	QIN Yu, ZHANG Qiang, LI Xin, <i>et al.</i> (5289)
Analysis of the Temporal and Spatial Variation of PM _{2.5} in China Based on the LUR Model	LIU Bing-jie, PENG Xiao-min, LI Ji-hong (5296)
Physicochemical Properties of the Aerosol Particles and Their Impacts on Secondary Aerosol Formation at the Background Site of the Yangtze River Delta	 HUANG Dan-dan, ZHOU Min, YU Chuan-guan, <i>et al.</i> (5308)
Analysis of Different Particle Sizes, Pollution Characteristics, and Sources of Atmospheric Aerosols During the Spring Dust Period in Beijing	YANG Yang, LI Xing-ru, CHEN Xi, <i>et al.</i> (5315)
Characteristics of Ambient VOCs at the Shuangliu Site in Chengdu, China, During Summer and Autumn	DENG Yuan-yuan, LI Jing, LI Ya-qi, <i>et al.</i> (5323)
Source Profiles and Chemical Reactivity of Volatile Organic Compounds from Surface Coating of Aluminum Products in Foshan, China	LI Xia, SU Wei-jian, LI Bi-xia, <i>et al.</i> (5334)
Emission Inventory and Characteristics of Anthropogenic Air Pollutant Sources in the Sichuan Province	ZHOU Zi-hang, DENG Ye, TAN Qin-wen, <i>et al.</i> (5344)
Characteristics of Particulate Matter Emissions from the Coking Process	WANG Yan-hui, ZHAO Liang, SUN Wen-qiang, <i>et al.</i> (5359)
Dry and Wet Deposition of Atmospheric Nitrogen in Small Catchments	WANG Huan-xiao, PANG Shu-jiang, WANG Xiao-yan, <i>et al.</i> (5365)
Seasonal Changes of the Pathways of Nitrogen Export from an Agricultural Watershed in China	LI Wen-chao, LEI Qiu-liang, ZHAI Li-mei, <i>et al.</i> (5375)
Dynamics and Runoff Losses of Nitrogen in Paddy Field Surface Water Under Combined Application of Biochar and Slow/Controlled-Release Fertilizer	 SI Lin-lin, ZHOU Jing-jie, WU Liang-huan, <i>et al.</i> (5383)
Indirect Nitrous Oxide Emissions from an Agricultural Headwater Stream During the Rainy Season in the Upper Reach of the Yangtze River	TIAN Lin-lin, WANG Zheng, ZHU Bo (5391)
Concentration, Flux, and Emission Factor of N ₂ O in Rivers with Different Nitrogen Pollution Features	WANG Miao, LI Ya-feng, LEI Kun, <i>et al.</i> (5400)
Identification of Nitrate Pollution Sources Through Various Isotopic Methods: A Case Study of the Huixian Wetland	PENG Cong, PAN Xiao-dong, JIAO You-jun, <i>et al.</i> (5410)
Temporal and Spatial Distribution of the Soil Water δD and $\delta^{18}O$ in a Typical Karst Valley: A Case Study of the Zhongliang Mountains, Chongqing City	 WU Wei, JIANG Yong-jun, JIA Ya-nan, <i>et al.</i> (5418)
Hydrochemical Characteristics of Groundwater and the Origin in Alluvial-proluvial Fan of Qinhe River	LIU Jiang-tao, CAI Wu-tian, CAO Yue-ting, <i>et al.</i> (5428)
Impact of Maximum Precipitation in 2017 on the Runoff Component of Reclaimed Water-Intaking River	LIAO An-ran, SONG Xian-fang, ZHANG Ying-hua, <i>et al.</i> (5440)
Spectral Evolution Characteristics of DOM in Sediment Interstitial Water During the Formation Stage of Thermal Stratification in the Main Reservoir Area of the Zhoucun Reservoir	 ZHOU Shi-lei, ZHANG Yi-ran, HUANG Ting-lin, <i>et al.</i> (5451)
Pollution Characteristic of Ni in Sediments in the Three Gorges Reservoir	ZHANG Wei-jie, YIN Shu-hua, XU Dong-yu, <i>et al.</i> (5464)
Migration and Transformation of Mercury at Sediment-Water Interface of the Dahong Lake Reservoir in the Simian Mountains	GUO Pan, SUN Tao, YANG Guang, <i>et al.</i> (5473)
Effects of Wetland Types on Distribution of Soil Methylmercury Based on the Region of Nanweng River in the Greater Xing'an Mountains	ZHOU Xin-quan, LIU Yu-rong, LI Jing, <i>et al.</i> (5480)
Simulation of the Migration and Release Characteristics of Organophosphate Esters in Fluctuation Zone Soil of the Three Gorges Reservoir During Flooding	 YANG Ting, HE Ming-jing, YANG Zhi-hao, <i>et al.</i> (5487)
Spatial Distribution of Perfluoroalkyl Acids and Transformation of Their Precursors in River Water Samples and Effluents of Wastewater Treatment Plants in a Typical Tourism City	 WANG Shi-liang, SUN Jian-shu, YANG Yue-wei, <i>et al.</i> (5494)
Purification Efficiency and Microbial Characteristics of Four Biofilters Operated Under Different Conditions	JIANG Xiao-liang, LI Meng, ZHANG Shao-hui, <i>et al.</i> (5503)
Effects of Manganese on the Growth and Fluorescence Induction Kinetics of <i>Conticribra weisflogii</i>	WANG Mu-lan, JIANG Yue-lu (5514)
Distribution and Factors Affecting <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> in Guangdong Reservoirs	LEI Min-ting, PENG Liang, HAN Bo-ping, <i>et al.</i> (5523)
Removal of Humic Acid from Water by Magnetic Chitosan-Grafted Polyacrylamide	YOU Wen, LIU Hai-cheng, CAO Jia-wei, <i>et al.</i> (5532)
Ozone-Biological Activated Carbon for Advanced Removal of Typical Persistent Organic Pollutants from Micro-Polluted Source Water in the Yangtze Delta Region	 LAN Ya-qiong, LIU Rui, MA Zheng-jie, <i>et al.</i> (5541)
Color and Nitrogen Removal from Synthetic Dye Wastewater in an Integrated Hydrolysis/Acidification and Anoxic/Aerobic Process	GU Meng-qi, YIN Qi-dong, LIU Ai-ke, <i>et al.</i> (5550)
Removal Characteristics of High Concentrations of Perchlorate Using a "Heterotrophic Sulfur Autotrophic" Combination Process	LIU Ying-nan, TAO Hua-qiang, SONG Yuan-yuan, <i>et al.</i> (5558)
Rapid Start-up of a Nitrite-Dependent Methane Anaerobic Oxidation Reaction Under Static Pressure Conditions	WANG Yi-nan, HU Zhen, RU Dong-yun, <i>et al.</i> (5565)
Optimization of the Flow Distribution Ratio and Mechanism of Nitrogen Removal in a Multi-level AO Coupled Flow Biochemical Process	WANG Fan, LI Jun, BIAN De-jun, <i>et al.</i> (5572)
High-rate Nitrogen Removal in a Two-stage Partial Nitrification-ANAMMOX Process Under Mainstream Conditions	LIU Wen-ru, YANG Dian-hai, SHEN Yao-liang, <i>et al.</i> (5580)
Effects of Different Substrate Concentrations on the Short-term Storage of ANAMMOX Bacteria	GAO Xue-jian, ZHANG Jie, LI Dong, <i>et al.</i> (5587)
Optimization of the Mainstream Anaerobic Ammonia Oxidation Process and Its Changes of the Microbial Community	FU Kun-ming, FU Chao, LI Hui, <i>et al.</i> (5596)
Granular Characteristics of Anaerobic Ammonia Oxidation Sludge During the Recovery Process	CHEN Fang-min, GU Cheng-wei, HU Yu-ting, <i>et al.</i> (5605)
Characterization of a Newly Isolated Strain <i>Pseudomonas</i> sp. N3 for Denitrification at Low Temperature	LU Jun-ling, CHEN Hui-ping, XIAO Lin (5612)
Heavy Metal Pollution and Potential Ecological Risk of Soil from Reclaimed Industrial Sites and Surrounding River Sediments	WU Jian, WANG Min, ZHANG Hui-peng, <i>et al.</i> (5620)
Ecological Risk Assessment of Soil Heavy Metals for Different Types of Land Use and Evaluation of Human Health	LI Chun-fang, CAO Jian-fei, LÜ Jian-shu, <i>et al.</i> (5628)
Soil Pollution Characteristics and Ecological Risk Assessment of As at a Large-scale Arsenic Slag-contaminated Site	LIU Geng, SHI Ying, TIAN Hai-jin, <i>et al.</i> (5639)
Relationship Between the Bacterial Abundance and Production with Environmental Factors in a Subtropical Karst Reservoir	XIN Sheng-lin, LIANG Yue-ming, PENG Wen-jie, <i>et al.</i> (5647)
Structure Analysis of Arbuscular Mycorrhizal in Roots from Different Shrubs in Karst Regions	LIANG Yue-ming, SU Yi-rong, HE Xun-yang, <i>et al.</i> (5657)
Effects of Stimulated Nitrogen Deposition on the Bacterial Community Structure of Semiarid Temperate Grassland	LI Zong-ming, SHEN Ju-pei, ZHANG Li-mei, <i>et al.</i> (5665)
Effect of Phosphorus Addition on the Abundance of Autotrophic CO ₂ -Fixation Microorganisms in Rhizospheric Soil from a Phosphorus-Limited Paddy Field	 BAI Jing, LI Yi-fei, LIU Shou-long, <i>et al.</i> (5672)
Effects of Varying Long-term Fertilization on Organic Carbon Mineralization and Priming Effect of Paddy Soil	MA Xin, WEI Liang, TANG Mei-liang, <i>et al.</i> (5680)
Relationship Between the Vegetation Community and Soil Nutrient and Enzyme Activity During the Restoration of Abandoned Land in the Loess Hilly Region	 QIAO Wen-jing, DAI Yin-yue, ZHANG Wei, <i>et al.</i> (5687)
Degradation of Pentachlorophenol by Fulvic Acid in a Municipal Solid Waste Landfill	LIU Si-jia, HE Xiao-song, ZHANG Hui, <i>et al.</i> (5699)
Effect of CO ₂ Doubling and Different Plant Growth Stages on Rice Carbon, Nitrogen, and Phosphorus and Their Stoichiometric Ratios	 TANG Mei-ling, XIAO Mou-liang, YUAN Hong-zhao, <i>et al.</i> (5708)
Assessment of Medical Waste Disposal Technologies Based on the AHP	XU Xiao-fang, TAN Quan-yin, LIU Li-li, <i>et al.</i> (5717)
Livestock and Poultry Faeces Nitrogen Loading Rate and Its Potential Return to Farmland in China	LIU Xiao-yong, WANG Xiu-bin, LI Shu-tian (5723)