

Mn、Cd 单一及其复合胁迫对伊乐藻生长及生理生化的影响

龙 瑞, 张 明, 张光生, 成小英*

(江南大学环境与土木工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘 要:以不同浓度 Mn^{2+} 、 Cd^{2+} 单一及其复合胁迫处理 7 d 的伊乐藻为实验材料, 研究了 Mn^{2+} 、 Cd^{2+} 单一及其复合处理对伊乐藻叶片叶绿素、可溶性蛋白、丙二醛(MDA)、过氧化氢(H_2O_2)、超氧阴离子($\text{O}_2^{\cdot-}$)含量以及抗氧化酶[超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)]活性的影响。结果表明, 低浓度的 Mn^{2+} ($\leq 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 能够促进叶绿素和可溶性蛋白的合成, 刺激 MDA、 H_2O_2 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的生成, 抗氧化酶活性也逐步上升; 高浓度时, 叶绿素和可溶性蛋白含量开始减少, MDA、 H_2O_2 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量仍继续上升, 伊乐藻叶片内酶活性机制受到不同程度的抑制, SOD 继续上升, POD、CAT 开始下降。Cd²⁺胁迫下, 叶绿素和可溶性蛋白的含量随着浓度的增加而降低, 呈明显的剂量-效应关系, MDA、 H_2O_2 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量均显著增加, 抗氧化酶活性均随着 Cd^{2+} 浓度呈先上升后下降的趋势, Cd^{2+} 浓度 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 CAT 活性达到最大, $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 SOD、POD 活性达到最大。Cd²⁺对植物生理生化的影响较 Mn^{2+} 大, 伊乐藻对 Cd²⁺ 污染的抵御能力较差。高浓度重金属胁迫时, SOD 起主要的保护作用, POD 和 CAT 的保护作用相对降低。Mn²⁺ 和 Cd²⁺ 复合胁迫较单一胁迫对伊乐藻的影响大, Mn²⁺ 含量较高时表现为协同作用。

关键词: Mn^{2+} ; Cd^{2+} ; 复合胁迫; 伊乐藻; 生长; 生理生化

中图分类号: X171.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2014)06-1112-06 doi:10.11654/jaes.2014.06.009

Effects of Mn and Cd and Their Combination on Growth and Physiological and Biochemical Characteristics of *Elodea nuttallii*

LONG Rui, ZHANG Ming, ZHANG Guang-sheng, CHENG Xiao-ying*

(School of Environmental and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: *Elodea nuttallii*, an aquatic plant, has showed potential for ecological restoration of polluted water. Here, we examined chlorophyll, soluble protein, malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide (H_2O_2), and superoxide anion ($\text{O}_2^{\cdot-}$) contents, and superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) activities in *Elodea nuttallii* under different Mn^{2+} and Cd^{2+} stresses for 7 days. Low concentrations of Mn^{2+} promoted contents of chlorophyll, soluble protein, MDA, H_2O_2 and $\text{O}_2^{\cdot-}$, and stimulated activities of antioxidant enzymes. Under high concentrations of Mn^{2+} , the chlorophyll and soluble protein contents and POD and CAT activities decreased, while MDA, H_2O_2 and $\text{O}_2^{\cdot-}$ contents and SOD activity increased. Under Cd^{2+} stresses, the chlorophyll and soluble protein contents decreased, showing a dose-response relationship; whereas MDA, H_2O_2 and $\text{O}_2^{\cdot-}$ significantly increased the activities of antioxidant enzymes at low Cd^{2+} stresses but decreased at high Cd^{2+} concentrations. The CAT activity was greatest at $0.01 \text{ mg Cd} \cdot \text{L}^{-1}$, while the activities of SOD and POD were highest at $1 \text{ mg Cd} \cdot \text{L}^{-1}$. Compared with POD and CAT, SOD played greater protection under high concentrations of heavy metals. The combined effects of Mn^{2+} and Cd^{2+} on the plant were greater than their single. The synergy effects of Mn^{2+} and Cd^{2+} were observed under the high Mn^{2+} concentrations. In conclusion, Cd has greater stresses than Mn^{2+} on the physiological and biochemical characteristics of the plant. *Elodea nuttallii* shows poorer resistance to Cd^{2+} than Mn^{2+} stresses.

Keywords: Mn^{2+} ; Cd^{2+} ; combined stress; *Elodea nuttallii*; growth; physiological and biochemical characteristics

收稿日期: 2013-10-15

基金项目: 国家科技重大专项(2012ZX07101-013-04)

作者简介: 龙 瑞(1989—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为湖泊生态。E-mail: longrui8964@163.com

* 通信作者: 成小英 E-mail: chengxiaoyitu@163.com

伊乐藻原产于美洲,于20世纪80年代从日本琵琶湖引入中国。伊乐藻为一年生高等沉水植物,冬春至初夏生长,夏季生长停滞或部分死亡,但在人工栽培条件下一年四季都能正常生长^[1]。伊乐藻耐污性强、适应性高、繁殖快、生长期长、较耐寒,因而伊乐藻在水体生态修复中越来越受到关注。段德龙等^[2]对伊乐藻与狐尾藻、苦草和金鱼藻的竞争力强弱进行了研究,结果表明,伊乐藻较强的耐寒能力使它在时空竞争中更早地显示出优势。

Mn是植物生长和发育的必需微量元素,能直接参与植物光合作用中电子传递系统的氧化还原过程,对叶绿素维持正常的膜结构具有重要作用^[3-4]。适量的Mn能加强植物中氧化酶吸收氧的能力,但浓度过高也会表现毒害作用^[5],抑制植物生长,扰乱营养元素的平衡,可诱导产生大量的活性氧,导致植物体内代谢失调。徐小颖等^[6]研究发现,Mn²⁺对植物的毒害是通过植物体内生理生化和细胞结构造成整体伤害,导致植物体内活性氧清除系统被破坏,活性氧大量积累,使植物的生理代谢紊乱并最终衰老和死亡。

Cd污染在全球范围内普遍存在。Cd对人体、动物和植物都是非必需的,不参与生物有机体的任何结构组成和代谢活动,而且具有极强的毒性。1955年,发生在日本富山县的“骨痛病”就是由于过量摄入Cd而引发的。2013年2月,湖南“万吨镉超标大米”事件也引起了社会的广泛关注。大量研究表明,Cd对植物生长有毒害作用,Cd毒害首先胁迫植物体内的抗氧化系统,导致氧化还原失衡,活性氧大量积累,从而造成植物细胞受损甚至死亡^[7]。

自然状态下,Mn、Cd主要以水溶态、可交换态与碳酸盐结合态存在,这种形态分布特征决定了Mn、Cd有较大的释放潜力,生物可利用性较大,具有较大的潜在危害^[8],且污染多呈复合型,故研究Mn、Cd单一及其复合胁迫具有一定的理论价值和实践意义。目前,关于Cd对水生植物的研究较多,但对单一Mn胁迫及Mn、Cd复合胁迫对高等水生植物的毒害影响的研究资料较少。同时,有关伊乐藻生理生态及对富营养化水体的修复功能方面的报道较多,但有关重金属对伊乐藻毒害的研究少有报道。鉴于此,本研究以伊乐藻为研究对象,对不同浓度的Mn、Cd单一及其复合胁迫下伊乐藻的生理生化指标进行初步研究,以期评价伊乐藻的水环境修复功能提供基础信息,以便于在水生态修复工程中更加科学合理地利用这一物种资源。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

伊乐藻采自湖北荆州,后移植于江南大学玻璃温室水生植物培育池中培育。2013年1月,选取生长旺盛、长势和大小一致(长度为15 cm左右)的植株作为实验材料,将实验植株先种在实验室铺好洁净石英砂的60 cm×55 cm×41 cm的透明塑料箱中,用1/10浓度的Hoaglands营养液驯化10 d后,称取相同质量(约20 g)的伊乐藻,分别栽入3 L玻璃烧杯中,烧杯底部预先铺好等量的洁净石英砂,试验水体积为3 L。试验共分为13组:对照组(CK)用1/10 Hoaglands营养液培养,其余12组用含有不同浓度的Mn²⁺或/和Cd²⁺的1/10 Hoaglands营养液培养(表1),每组设3个重复。Mn²⁺用MnSO₄·H₂O配制,Cd²⁺用CdSO₄配制,重金属浓度取值范围的选择参考相关文献^[6,9-11],同时结合预试验结果,以对植物有一定胁迫效应为宜。持续培养7 d后,每天用0.1 mol·L⁻¹ NaOH或0.1 mol·L⁻¹ HCl调节营养液pH至7.5左右,在第8 d取材,用蒸馏水洗净,吸干,测定叶绿素、可溶性蛋白、丙二醛(MDA)、过氧化氢(H₂O₂)、超氧阴离子(O₂⁻)的含量和超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)的活性。

表1 Mn、Cd及其复合胁迫的浓度设计(mg·L⁻¹)

Table 1 Concentrations of Mn and Cd used in the experiment

重金属	处理1	处理2	处理3	处理4
Mn	0.1	1	10	20
Cd	0.001	0.01	1	10
Mn+Cd	0.1+0.001	1+0.01	10+1	20+10

1.2 测定方法

叶绿素含量采用二甲亚砷法测定^[12];可溶性蛋白含量采用Bradford^[13]的考马斯亮蓝G-250法测定;丙二醛含量采用硫代巴比妥酸法(TBA法)^[14]测定。H₂O₂、O₂⁻含量和SOD、POD、CAT活性采用购自上海颖心实验室设备有限公司的植物Elisa检测试剂盒测定。

1.3 数据分析

所有数据均为3次独立实验的平均值±标准差(Mean±SD),并用SPSS 17.0进行方差分析,经分析有效的数据($P<0.05$)进行LSD多重分析比较。

2 结果与分析

2.1 Mn²⁺、Cd²⁺单一及其复合胁迫对伊乐藻叶绿素、可溶性蛋白含量的影响

由图1可看出,低浓度(≤ 1 mg·L⁻¹)单一Mn²⁺胁

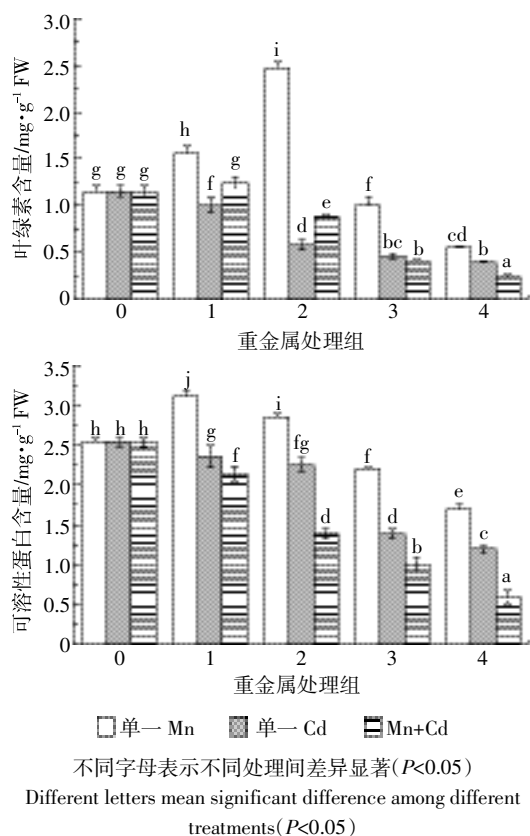


图1 Mn^{2+} 、 Cd^{2+} 单一及其复合胁迫对伊乐藻叶片叶绿素、可溶性蛋白含量的影响

Figure 1 Effects of Mn^{2+} and Cd^{2+} and their combination on contents of chlorophyll and soluble protein in leaves of *Elodea nuttallii*

胁迫下,叶绿素和可溶性蛋白含量显著上升($P < 0.05$)。而在高浓度 Mn^{2+} ($\geq 10 mg \cdot L^{-1}$)胁迫下,叶绿素和可溶性蛋白含量显著下降($P < 0.05$),当 Mn^{2+} 浓度为 $20 mg \cdot L^{-1}$ 时,下降至最低点。单一 Cd^{2+} 胁迫下,随着 Cd^{2+} 浓度的增加,叶绿素和可溶性蛋白含量呈下降趋势。结果表明,与CK相比,各个 Cd^{2+} 处理水平可明显降低伊乐藻叶片叶绿素和可溶性蛋白含量。

复合胁迫下,低浓度处理 ($0.1 mg \cdot L^{-1} Mn^{2+} + 0.001 mg \cdot L^{-1} Cd^{2+}$ 和 $1 mg \cdot L^{-1} Mn^{2+} + 0.01 mg \cdot L^{-1} Cd^{2+}$)时,叶绿素含量低于相应的 Mn^{2+} 单一处理,但高于相应的 Cd^{2+} 单一处理,表明少量 Mn^{2+} 一定程度上缓解了 Cd^{2+} 对伊乐藻的毒害作用。高浓度处理时,均低于相应的单一处理,表明高浓度的 Mn^{2+} 和 Cd^{2+} 复合处理表现出协同作用。可溶性蛋白含量随着复合强度的增强而降低,呈明显的剂量-效应关系,降幅均高于相应的单一处理,表明 Mn^{2+} 和 Cd^{2+} 复合处理表现出协同作用。

2.2 Mn^{2+} 、 Cd^{2+} 单一及其复合胁迫对伊乐藻MDA、 H_2O_2 、 $O_2^{\cdot-}$ 含量和SOD、POD、CAT活性的影响

如表2所示,低浓度($< 1 mg \cdot L^{-1}$)单一 Mn^{2+} 的胁迫

下,MDA含量有所上升但不明显,而 H_2O_2 、 $O_2^{\cdot-}$ 含量均急剧上升,随着 Mn^{2+} 胁迫浓度的上升,三者含量均显著上升, $20 mg \cdot L^{-1}$ 浓度时达到最大值。SOD活性变化随处理浓度的升高总体呈上升趋势, $20 mg \cdot L^{-1}$ 浓度时,达到最大值,增幅为123%。POD、CAT活性则随着处理浓度的升高呈先上升后下降的趋势, $10 mg \cdot L^{-1}$ 时达到最大值,在 $20 mg \cdot L^{-1}$ 浓度时两种酶活性有所下降但仍高于CK值。单一 Cd^{2+} 胁迫下,MDA、 H_2O_2 、 $O_2^{\cdot-}$ 含量均迅速上升, $10 mg \cdot L^{-1}$ 时,增幅分别为175%、169%、153%。SOD、POD、CAT活性的变化在整个浓度梯度中均表现为先上升后下降。SOD、POD活性在 $1 mg \cdot L^{-1}$ 达到最大,增幅分别为119%和86%,在 $10 mg \cdot L^{-1}$ 时活性有所下降但仍高于CK。CAT活性在 $0.01 mg \cdot L^{-1}$ 时达到峰值,增幅为65%, $10 mg \cdot L^{-1}$ 时活性仅为CK的89%。这与周红卫等^[15]及马剑敏等^[16]的研究结果不完全一致,可能与植物种类和培养时间有关。

Mn^{2+} 和 Cd^{2+} 复合胁迫时,MDA、 H_2O_2 、 $O_2^{\cdot-}$ 含量变化趋势和单一胁迫时相似,随复合处理浓度的增加而上升,MDA含量在高浓度处理 ($> 0.01 mg \cdot L^{-1} Cd^{2+} + 1 mg \cdot L^{-1} Mn^{2+}$)时,高于相应的单一处理;而 H_2O_2 、 $O_2^{\cdot-}$ 含量在各浓度处理下,均高于相应的单一处理。SOD、POD、CAT活性均为先上升后下降, $0.1 mg \cdot L^{-1} Mn^{2+} + 0.001 mg \cdot L^{-1} Cd^{2+}$ 时SOD活性迅速上升,增幅为99%,而POD、CAT的活性的增幅仅为10%、25%; $1 mg \cdot L^{-1} Mn^{2+} + 0.01 mg \cdot L^{-1} Cd^{2+}$ 处理时三种酶活性均达到最大值, $20 mg \cdot L^{-1} Mn^{2+} + 10 mg \cdot L^{-1} Cd^{2+}$ 时三种酶活性均显著降低,SOD活性仍高于CK,而POD、CAT活性,与CK相比降幅分别为25%和33%(表2)。

3 讨论

叶绿素是植物光合作用的主要色素,其含量高和植物光合作用水平的强弱密切相关^[17]。低浓度单一 Mn^{2+} ($0.1 mg \cdot L^{-1}$ 和 $1 mg \cdot L^{-1}$)胁迫下,叶绿素含量显著增加,可能是由于 Mn^{2+} 是叶绿体结构的必要组成成分,低浓度 Mn^{2+} 能够促进叶绿素合成。但当处理浓度升高时($\geq 10 mg \cdot L^{-1}$),过量的 Mn^{2+} 能够抑制一些必需元素的吸收,最终导致叶绿素合成的减少,光合作用效率下降^[18]。单一 Cd^{2+} 胁迫下,叶绿素含量随着Cd浓度的增加而下降,可能是Cd胁迫致使叶片中Fe含量减少和Cd自身对叶绿素新陈代谢的消极影响,导致叶绿素的降解和生物合成受到抑制^[19]。 Mn^{2+} 、 Cd^{2+} 复合胁迫下,除 $0.001 mg \cdot L^{-1} Cd^{2+} + 0.1 mg \cdot L^{-1} Mn^{2+}$ 叶绿素含量有所上升外,其余复合处理胁迫下,叶绿素含

表 2 Mn^{2+} 、 Cd^{2+} 单一及其复合胁迫对伊乐藻叶片 MDA、 H_2O_2 、 $O_2^{\cdot-}$ 含量和 SOD、POD、CAT 活性的影响Table 2 Effects of Mn^{2+} and Cd^{2+} and their combination on contents of MDA, H_2O_2 , and $O_2^{\cdot-}$ and activities of SOD, POD, and CAT in leaves of *Elodea nuttallii*

处理/ $mg \cdot L^{-1}$	MDA/ $nmol \cdot g^{-1}$ FW	H_2O_2 / $ng \cdot g^{-1}$ FW	$O_2^{\cdot-}$ / $ng \cdot g^{-1}$ FW	SOD/ $U \cdot g^{-1}$ FW	POD/ $U \cdot g^{-1}$ FW	CAT/ $U \cdot g^{-1}$ FW
CK	13.28±0.83a (100)	1.53±0.07a (100)	1.17±0.02a (100)	157.58±4.46a (100)	1 545.91±42.11b (100)	758.97±12.96c (100)
Mn_1 0.1	14.89±0.79a (112)	1.84±0.05b (120)	1.34±0.02b (114)	181.57±7.67b (115)	1 805.23±44.51d (117)	842.24 ±13.56d (111)
Mn_2 1	17.96±0.60b (135)	2.07±0.06c (135)	1.43±0.03c (122)	217.37±7.22c (138)	1 959.17±56.70ef (127)	981.46±16.47fg (129)
Mn_3 10	19.13±0.51bc (144)	2.88±0.11f (188)	1.73±0.01e (148)	259.61±4.12d (165)	2 870.11±63.92h (186)	1 295.35±13.49h (171)
Mn_4 20	22.73±1.75de (171)	3.32±0.05g (217)	2.13±0.04g (182)	351.15±8.19f (223)	1 731.07±56.70cd (112)	939.08±52.62ef (124)
Cd_1 0.001	21.02±1.01cd (158)	2.23±0.08d (146)	1.54±0.03d (131)	205.95±4.10c (131)	1 693.64±40.65c (110)	976.90±13.42fg (129)
Cd_2 0.01	24.22±1.05e (182)	2.91±0.09f (190)	1.89±0.08f (162)	307.77±6.46e (195)	2 543.41±44.40g (165)	1 248.79±52.41i (165)
Cd_3 1	31.21±1.25f (235)	3.57±0.04h (233)	2.48±0.04i (212)	344.96±6.84f (219)	2 880.42±46.80h (186)	891.02±15.99de (117)
Cd_4 10	36.55±1.34g (275)	4.12±0.10j (269)	2.96±0.05k (253)	266.37±5.89d (169)	1 997.92±73.06f (129)	678.52±47.43b (89)
Mn_1+Cd_1 0.1+0.001	17.93±1.05b (135)	2.46±0.12e (161)	1.80±0.08e (154)	312.93±8.31e (199)	1 702.21±44.91c (110)	947.43±36.87ef (125)
Mn_2+Cd_2 1+0.01	22.80±0.79de (172)	3.29±0.06g (215)	2.28±0.09h (195)	472.42±8.55g (300)	3 188.35±42.87i (206)	1 503.54±44.76j (198)
Mn_3+Cd_3 10+1	38.56±0.79h (290)	3.83±0.11i (250)	2.83±0.05j (242)	345.23±9.76f (219)	1 900.16±45.03e (123)	1 031.39±41.10g (136)
Mn_4+Cd_4 20+10	43.55±2.17i (328)	4.77±0.03k (312)	3.33±0.04l (284)	213.67±8.91c (136)	1 152.97±55.54a (75)	506.31±14.48a (67)

注:表中数据为平均值±标准差($n=3$),括号内为相对值;不同字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$)。Note: Data in table are mean value ± standard deviation ($n=3$), data in bracket are the relative value. Different letters indicate significant difference between different treatments($P<0.05$).

量均显著下降,且降幅均随着复合强度的增加而增加。换句话说,在低浓度复合胁迫下, Mn^{2+} 对 Cd^{2+} 的毒害作用有一定的缓解,而在更高浓度复合胁迫下, Mn^{2+} 和 Cd^{2+} 对植物的毒害体现为协同作用。

可溶性蛋白含量的高低体现植物生理活动的旺盛程度^[20]。单一 Mn^{2+} 胁迫下,低浓度的 Mn^{2+} ($0.1 mg \cdot L^{-1}$ 和 $1 mg \cdot L^{-1}$)可造成伊乐藻可溶性蛋白含量增加,而后随着 Mn^{2+} 浓度的增加伊乐藻可溶性蛋白含量逐渐降低。这可能由于 Mn^{2+} 是植物生长必需的微量元素,低浓度 Mn^{2+} 能够参与植物体内代谢,促进蛋白质合成,但更高浓度的 Mn^{2+} 则抑制了蛋白质的合成。而单一 Cd^{2+} 胁迫时,可溶性蛋白含量随着 Cd^{2+} 浓度的上升而显著降低,说明 Cd^{2+} 对蛋白质的合成与代谢有严重的破坏作用^[15]。 Mn^{2+} 、 Cd^{2+} 复合胁迫下,随着重金属浓度的增加伊乐藻可溶性蛋白含量减小, Mn^{2+} 和 Cd^{2+} 对植物的毒害体现为协同作用。这可能是蛋白活性受到抑

制或蛋白质发生降解,也可能是蛋白质合成酶的失活或 DNA 转录翻译途径受阻,影响了蛋白质的合成^[21]。

植物在逆境条件下会发生氧化胁迫,活性氧物质如 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 等的产生及累积会损伤细胞进而影响植物生长。SOD、POD 和 CAT 是植物抗氧化保护系统中主要的酶,其中 SOD 的主要作用是将 $O_2^{\cdot-}$ 歧化成 H_2O_2 ,再由 CAT、POD 将 H_2O_2 分解成 H_2O ,从而缓解 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 的积累^[22]。只有三者协同才有利于清除过多的活性氧并使之维持在较低水平。

单一 Mn^{2+} 胁迫时,MDA、 H_2O_2 、 $O_2^{\cdot-}$ 含量均随着处理浓度的增加而上升,SOD 活性变化随处理浓度的升高总体呈上升趋势,20 $mg \cdot L^{-1}$ 浓度时达到最大值。POD、CAT 活性随处理浓度的升高呈先上升后下降的趋势,在 10 $mg \cdot L^{-1}$ 时达到最大值,但在 20 $mg \cdot L^{-1}$ 浓度时仍高于 CK。徐小颖等^[6]研究说明低浓度 Mn^{2+} 能使 SOD、POD 和 CAT 活性逐渐增加,是植物对防止活

性氧伤害的一种保护性适应;高浓度 Mn^{2+} 时, SOD 起主要的保护作用, 而 POD 和 CAT 的保护程度降低, POD、CAT 也是活性氧清除系统的重要保护剂, 它们活性的降低又在一定程度上加重了活性氧对膜的伤害。

单一 Cd^{2+} 胁迫下伊乐藻叶片中 MDA、 H_2O_2 、 $O_2^{\cdot-}$ 含量逐渐上升, 常福辰等^[23]研究表明, 在 Cd^{2+} 胁迫下 $O_2^{\cdot-}$ 含量上升表明植物体内的活性氧自由基系统已不能有效的发挥作用。SOD、POD、CAT 的活性均随处理浓度的增高呈先上升后下降的趋势。有研究表明低浓度 Cd^{2+} 可以促进植物呼吸酶和三羧酸循环, 随着 Cd^{2+} 浓度升高, 酶活性受抑制^[24], 叶片内的抗氧化酶不足以抵御活性氧含量的升高^[25], 伊乐藻表现出损伤, 叶绿素显著减少。

Mn^{2+} 和 Cd^{2+} 共同胁迫时, MDA、 H_2O_2 、 $O_2^{\cdot-}$ 含量均随着处理浓度的增加而上升。低浓度时 ($\leq 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} Mn^{2+} + 0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} Cd^{2+}$) MDA 含量升幅低于 H_2O_2 、 $O_2^{\cdot-}$ 含量升幅, 而高浓度 ($\geq 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} Mn^{2+} + 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} Cd^{2+}$) 时 MDA 含量升幅反而高于 H_2O_2 、 $O_2^{\cdot-}$ 的含量升幅。一方面可能是由于 H_2O_2 和 $O_2^{\cdot-}$ 的大量积累直接导致膜脂过氧化, 另一方面可能是由于 SOD 的过量表达加速了 $O_2^{\cdot-}$ 的歧化, 导致 H_2O_2 的大量产生, 而 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 反应产生活性更强的 $OH^{\cdot}$ ^[26], 进而导致膜脂过氧化加剧, 因而 MDA 含量开始增加缓慢, 随后显著上升。高浓度复合处理 ($\geq 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} Mn^{2+} + 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} Cd^{2+}$) 时, MDA 含量高于相应的单一处理, 说明复合处理加剧了膜脂过氧化程度。同时, 各处理组的 H_2O_2 、 $O_2^{\cdot-}$ 含量均高于相应的单一处理, 说明 Mn^{2+} 和 Cd^{2+} 均表现出协同作用。此外, 各处理组的 SOD、POD、CAT 活性均呈现低浓度上升、高浓度下降的趋势, 也都在 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} Mn^{2+} + 0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} Cd^{2+}$ 处理时活性达到最高。这说明低浓度胁迫下, 植物能够积极地调动其防御系统抵抗胁迫。而在高浓度 ($\geq 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} Mn^{2+} + 0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} Cd^{2+}$) 胁迫下, 三种酶活性逐步降低, 可能是由于受害严重, 防御能力也随之下降^[15], 进而导致植物细胞受损过大, 保护能力显著下降, 细胞结构及生理生化反应受到破坏, 最终加速植物的衰老和死亡^[27]。

4 结论

由于 Mn^{2+} 是植物生长的必需元素, 低浓度的 Mn^{2+} ($< 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 对伊乐藻的生长有一定的促进作用, 但高浓度的 Mn^{2+} 会对植物产生毒害作用。植物对超过需求量的 Mn^{2+} 的胁迫也非常敏感。

Cd^{2+} 胁迫对伊乐藻的毒害作用较大, 微量 Cd^{2+}

($0.001 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 即可抑制伊乐藻叶片叶绿素和可溶性蛋白的合成。

两种重金属均不同程度地加快了 MDA、 H_2O_2 和 $O_2^{\cdot-}$ 的产生, MDA、 H_2O_2 和 $O_2^{\cdot-}$ 含量随着胁迫浓度的升高而增加。SOD、POD、CAT 活性也能够被诱导, 随着重金属浓度增加呈先升高后下降的趋势。表明重金属胁迫下, 植物发生氧化胁迫产生活性氧, 通过自身抗氧化系统的应激性清除过多的活性氧, 增强抗逆性。但随着重金属浓度的增加, 重金属会钝化植物的保护酶活性, 酶活性受到抑制, 植物抗氧化酶系统不足以抵御活性氧含量的增高, 重金属毒害作用开始显现, 植物叶绿素显著减少, 表现出明显的损伤作用。

高浓度重金属胁迫时, SOD 起主要的保护作用, POD 和 CAT 的保护作用有所降低。

较低浓度胁迫下, Mn^{2+} 对 Cd^{2+} 的毒害作用有一定的缓解。总的来说, Mn^{2+} 和 Cd^{2+} 复合胁迫较单一胁迫对伊乐藻的毒害作用有所增强。复合胁迫下, Mn^{2+} 含量较高时表现为协同作用。

参考文献:

- [1] 朱伟, 陈清锦, 张兰芳. 伊乐藻在冬季低温条件下对污染水体的净化效应[J]. 生态环境, 2004, 13(4): 497-499.
ZHU Wei, CHEN Qing-jin, ZHANG Lan-fang. Purification effect of polluted water in low temperature in winter by *Elodea nuttallii*[J]. *Ecology and Environment*, 2004, 13(4): 497-499.
- [2] 段德龙, 于金金, 杨静. 伊乐藻与狐尾藻、苦草和金鱼藻的竞争研究[J]. 河南农业科学, 2011, 40(8): 149-152, 155.
DUAN De-long, YU Jin-jin, YANG Jing. Research on competition of *Elodea nuttallii* with *Myriophyllum verticillatum*, *Vallisneria spiralis* and *Ceratophyllum demersum*[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2011, 40(8): 149-152, 155.
- [3] 刘铮. 微量元素的农业化学[M]. 北京: 农业出版社, 1991.
LIU Zheng. Agricultural chemical of trace elements[M]. Beijing: Agricultural Press, 1991.
- [4] 任立民, 刘鹏. 锰毒及植物耐性机理研究进展[J]. 生态学报, 2007, 27(1): 357-367.
REN Li-min, LIU Peng. Review of manganese toxicity & the mechanisms of plant tolerance[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(1): 357-367.
- [5] 畅喜云, 范月君, 陈志国. 重金属 Cr^{6+} , Mn^{2+} 污染对小麦幼苗生理生化特性及生长的影响研究[J]. 种子, 2012, 31(8): 39-42.
CHANG Xi-yun, FAN Yue-jun, CHEN Zhi-guo. Effects of heavy metal Cr^{6+} and Mn^{2+} on physiological-biochemical characteristic and growth of wheat seedlings[J]. *Seed*, 2012, 31(8): 39-42.
- [6] 徐小颖, 施国新, 徐勤松. Mn^{2+} 对菹草活性氧代谢及其亚显微结构的影响[J]. 南京师大学报(自然科学版), 2009, 32(1): 105-109.
XU Xiao-ying, SHI Guo-xin, XU Qin-song. Effect of manganese on reactive oxygen species metabolism and submicroscopic structure of *Potamogeton*

- mogeton crispus* [J]. *Journal of Nanjing Normal University (Natural Science Edition)*, 2009, 32(1): 105–109.
- [7] 赵中秋, 席梅竹. Cd对植物的氧化胁迫机理研究进展 [J]. *农业环境科学学报*, 2007, 26(增刊): 47–51.
- ZHAO Zhong-qiu, XI Mei-zhu. Advances in research on mechanisms of Cd-induced oxidative stress in plants [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(Suppl): 47–51.
- [8] 程 杰. 巢湖水体重金属污染评价及水中重金属污染的植物修复研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2008: 6.
- CHENG Jie. Pollution evaluation of heavy metals in Chaohu Lake and phytoremediation of heavy metals pollution in water [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2008: 6.
- [9] 王 超, 王丽娅, 孙 琴, 等. 低浓度镉胁迫下2种水生植物体内植物络合素的响应[J]. *四川大学学报(工程科学版)*, 2008, 40(6): 86–91.
- WANG Chao, WANG Li-ya, SUN Qin. Response of phytochelatin in two macrophytes exposed to environmentally relevant lower concentrations of cadmium [J]. *Journal of Sichuan University (Engineering Science Edition)*, 2008, 40(6): 86–91.
- [10] 吴振斌, 马剑敏, 赵 强, 等. Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 及其复合胁迫对伊乐藻的毒害[J]. *中国环境科学*, 2005, 25(3): 262–266.
- WU Zhen-bin, MA Jian-min, ZHAO Qiang, et al. Toxic harm of Hg^{2+} 、 Cd^{2+} and their combined stress on *Elodea nuttallii* [J]. *China Environmental Science*, 2005, 25(3): 262–266.
- [11] Dias M C, Monteiro C, Moutinho-Pereira J, et al. Cadmium toxicity affects photosynthesis and plant growth at different levels [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2013, 35: 1281–1289.
- [12] 陈振德, 傅以彬, 邹 琦, 等. 二甲亚砷和丙酮混合法测定叶绿素含量[J]. *山东农业大学学报*, 1989(2): 31–35.
- CHEN Zhen-de, FU Yi-bin, ZOU Qi, et al. Determination of chlorophyll content by the mixed method of dimethyl sulphoxide with acetone [J]. *Journal of Shandong Agricultural University*, 1989(2): 31–35.
- [13] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantity of protein dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248–254.
- [14] 李 玲, 郭日杰. 植物生理学模块实验指导[M]. 北京: 科学出版社, 2009.
- LI Ling, GUO Ri-jie. Plant physiology block laboratory manual [M]. Beijing: Science Press, 2009.
- [15] 周红卫, 施国新, 徐勤松. Cd^{2+} 污染水质对水花生根系抗氧化酶活性和超微结构的影响[J]. *植物生理学通讯*, 2003, 39(3): 211–214.
- ZHOU Hong-wei, SHI Guo-xin, XU Qin-song. Effects of Cd^{2+} polluted water on the activities of antioxidant enzymes and ultrastructure in roots of *Alternanthera philoxeroides* [J]. *Plant Physiology Communications*, 2003, 39(3): 211–214.
- [16] 马剑敏, 靳同霞, 李 今, 等. Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 及其联合胁迫对伊乐藻的生长及 POD 和 SOD 活性的影响[J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2006, 34(4): 125–128.
- MA Jian-min, JIN Tong-xia, LI Jin, et al. Effects of Hg^{2+} 、 Cd^{2+} and their combined stress on the growth and activities of POD and SOD of *Elodea nuttallii* [J]. *Journal of Henan Normal University (Natural Science)*, 2006, 34(4): 125–128.
- [17] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts, Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris* [J]. *Plant Physiology*, 1949, 24: 1–5.
- [18] 许文博, 邵新庆, 王宇通, 等. 锰对植物的生理作用及锰中毒的研究进展[J]. *草原与草坪*, 2011, 31(3): 5–14.
- XU Wen-bo, SHAO Xin-qing, WANG Yu-tong, et al. Research progress in physiological function of manganese and manganese poisoning in plants [J]. *Grassland and Turf*, 2011, 31(3): 5–14.
- [19] Bhaduri A M, Fulekar M H. Antioxidant enzyme responses of plants to heavy metal stress [J]. *Rev Environmental Science Bio/Technology*, 2012, 11(1): 55–69.
- [20] 王 学, 施国新, 徐勤松, 等. 镉、铈及重金属元素铬、锌对竹叶眼子菜的毒害作用[J]. *中国稀土学报*, 2004, 22(5): 682–686.
- WANG Xue, SHI Guo-xin, XU Qin-song, et al. Toxic effects of lanthanum, cerium, chromium and zinc on *Potamogeton Malaianus* [J]. *Journal of the Chinese Rare Earth Society*, 2004, 22(5): 682–686.
- [21] 周长芳, 吴国荣, 施国新, 等. 水生抗氧化系统在抵御 Cu^{2+} 胁迫中的作用[J]. *植物学报*, 2001, 43(4): 389–394.
- ZHOU Chang-fang, WU Guo-rong, SHI Guo-xin, et al. The role of antioxidant systems in Cu^{2+} stress resistance in *Alternanthera philoxeroides* [J]. *Acta Botanica Sinica*, 2001, 43(4): 389–394.
- [22] Fecht-Christoffers M M, Horst W J. Does apoplastic ascorbic acid enhance manganese tolerance of *Vigna unguiculata* and *Phaseolus vulgaris* [J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2005, 168: 590–599.
- [23] 常福辰, 施国新, 丁小余, 等. Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 复合污染下金鱼藻的细胞膜脂过氧化和抗氧化酶活性的变化[J]. *南京师大学报(自然科学版)*, 2002, 25(1): 45–48.
- CHANG Fu-chen, SHI Guo-xin, DING Xiao-yu, et al. Changes of cell membrane lipid peroxidation and activities of antioxidant enzyme systems of *Ceratophyllum demersum* L. in combinative pollution of Cd^{2+} and Hg^{2+} [J]. *Journal of Nanjing Normal University (Natural Science Edition)*, 2002, 25(1): 45–48.
- [24] 杨红玉, 王焕校. 某些绿藻对镉的富集作用及其毒性反应[J]. *环境科学学报*, 1990, 10(1): 64–71.
- YANG Hong-yu, WANG Huan-xiao. Accumulation and effect of cadmium on green algae [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1990, 10(1): 64–71.
- [25] 何 洁, 高钰婷, 贺 鑫, 等. 重金属 Zn 和 Cd 对翅碱蓬生长及抗氧化系统酶系统的影响[J]. *环境科学学报*, 2013, 33(1): 312–320.
- HE Jie, GAO Yu-ting, HE Xin, et al. The effect of Zn and Cd on growth and antioxidant enzymes activity of *Suaeda heteroptera* Kitagawa [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2013, 33(1): 312–320.
- [26] Shah K, Kumar R G, Verma A, et al. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings [J]. *Plant Science*, 2001, 161: 1135–1144.
- [27] Cobbett C S. Phytochelatin biosynthesis and function in heavy-metal detoxification [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2000, 3: 211–216.