

Mn、Zn 单一及复合污染对短毛茛氮素代谢的影响

于方明^{1,2}, 苏银萍¹, 刘 华¹, 李 燕¹, 李 艺^{1,2}, 刘可慧³, 李明顺^{1,2*}

(1.广西师范大学环境与资源学院, 桂林 541004; 2.广西环境污染控制理论与技术重点实验室, 桂林 541004; 3.桂林电子科技大学生命与环境科学学院, 桂林 541004)

摘 要:采用水培及正交设计的方法,研究了不同浓度 Mn(0、10、100 mg·L⁻¹)和 Zn(0、10、100 mg·L⁻¹)单一及复合处理对 Mn 超富集植物短毛茛(*Polygonum pubescens* Bl.)生长, Mn、Zn 富集能力, 叶片与根硝态氮、铵态氮、游离脯氨酸、可溶性蛋白质含量及氮素代谢关键酶谷氨酰胺合成酶(GOGAT)、谷氨酰胺合成酶(GS)、硝酸还原酶(NR)和谷氨酸脱氢酶(GDH)活性的影响。结果表明:单 Zn 处理时,短毛茛株高、株重、根长及叶绿素含量均随 Zn 浓度的升高而降低,当 Zn 浓度为 100 mg·L⁻¹ 时,株高和株重分别为对照的 78%和 56%;单 Mn 处理对短毛茛生长的影响不显著;Mn、Zn 复合处理下,短毛茛株高、株重、根长及叶绿素含量均随 Zn 浓度的升高而降低,单 Zn 以及单 Mn 处理均对短毛茛硝态氮、铵态氮、游离脯氨酸、可溶性蛋白质含量及 GOGAT、GS、NR、GDH 酶的活性造成不同程度的影响。单 Zn 处理时,T3 处理短毛茛根及叶中 GOGAT、GS、NR、GDH 酶的活性较对照 T1 均显著($P<0.05$)增强,其中根的四种酶活性分别为 T1 的 4.47、2.72、4.17、1.88 倍;单 Mn 处理对这四种酶活性的影响不显著;Mn、Zn 复合处理降低了短毛茛根系及叶片中硝态氮的含量(根中降低了 2.60%~70.13%,叶中降低了 12.67%~64.79%),同时提高了铵态氮、游离脯氨酸及可溶性蛋白质含量。在同一 Zn 污染水平,Mn 的增加使得短毛茛根和叶片中游离脯氨酸、可溶性蛋白质含量以及 GOGAT、GS、NR、GDH 酶活性均有不同程度的提高,当 Zn 的处理浓度为 100 mg·L⁻¹ 时,短毛茛叶片中游离脯氨酸含量、GOGAT 及 GDH 酶活性在 T9 处理下分别为 T3 的 1.8、1.69、2.68 倍,表明 Mn 的增加能够有效减缓 Zn 对短毛茛的胁迫。

关键词:短毛茛; Mn-Zn 复合污染; 氮素代谢

中图分类号:X503.233 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)03-0517-07 doi:10.11654/jaes.2013.03.017

Effects of Single Mn/Zn and Mn-Zn Combined Pollution on Nitrogen Metabolism in *Polygonum pubescens* Blume

YU Fang-ming^{1,2}, SU Yin-ping¹, LIU Hua¹, LI Yan¹, LI Yi^{1,2}, LIU Ke-hui³, LI Ming-shun^{1,2*}

(1.School of Environment and Resource, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China; 2.Guangxi Key Laboratory of Environmental Pollution Control Theory and Technique, Guilin 541004, China; 3.School of Life and Environmental Science, Guilin University of Electronic Technology, Guilin 541004, China)

Abstract: Hydroponic culture with orthogonal design method was conducted to investigate the effects of Mn and Zn on the growth, metal accumulation and nitrogen metabolism in hyperaccumulating plants *Polygonum pubescens* Blume. The enzymatic activities of nitrogen metabolism were determined including nitrate reductase(NR), glutamine synthetase(GS), glutamate synthase(GOGAT), glutamate dehydrogenase(GDH) as well as the nitrate nitrogen, ammonium nitrogen and free and soluble prolines. The results showed that under single treatment of Zn, the plant height, dry weight, root length and chlorophyll content decreased as Zn concentrations increased. At 100 mg·L⁻¹ Zn treatment, the plant height, dry weight were 78% and 56% of those under control, respectively. The growth of *P. pubescens* were not affected significantly when treated by Mn alone; Under combined pollution of Mn and Zn, the plant height, dry weight, root length and chlorophyll content decreased as Zn concentrations increased. Both single Zn and Mn treatment have varied impact on the contents of nitrate nitrogen, ammonium nitrogen, free prolines and soluble protein as well as enzymatic activities of GOGAT, GS, NR and GDH. Overall, Mn, and Zn com-

收稿日期:2012-10-09

基金项目:国家自然科学基金项目(41161057);广西科学研究与技术开发项目重大专项计划(桂科重 1298002-6)

作者简介:于方明(1975—),男,博士,副教授,主要从事生物修复方面的研究。E-mail:Fmyu1215@163.com

*通信作者:李明顺 E-mail:li_mingshun@126.com

bined treatment lowered the contents of nitrate nitrogen in roots (2.60%~70.13%) and leaves (12.67%~64.79%). But increased the contents of ammonium nitrogen, free proline and soluble protein. For the same Zn level, increased Mn addition raised the contents of free proline, and soluble protein, as well as GOGAT, GS, NR, and GDH enzymatic activities in varying degrees, indicating that Mn may effectively relieve Zn stress.

Keywords: *Polygonum pubescens* Blume; combined pollution of Mn and Zn; nitrogen metabolism

土壤重金属污染已成为当前研究的热点^[1-2],而土壤重金属污染,往往表现为多种重金属的复合污染^[3-5]。随着工业的发展,土壤 Mn 以及 Zn 污染非常严重,已引起社会的广泛关注^[6-7],且自然界中很少有单纯的 Mn 出现,它总是伴生于锌矿、铅锌矿等,易形成复合污染^[8]。相对于重金属单一污染,复合污染中元素间存在相互作用以及对生态效应的综合影响^[9]。在 Cd-Pb 复合处理条件下,对蜀葵(*Althaea rosea* Cav.)、凤仙花(*Impatiens Balsamina* L.)、金盏菊(*Calendula officinalis* L.) 3 种花卉进行研究,发现 Cd-Pb 相互作用效应与重金属之间的浓度组合、植物种和植株部位等有关^[10]。另外,Pb-Zn 复合处理可提高小鳞苔草(*Carex gentilis* Franch.)根部和叶片 SOD 以及 POD 的活性^[11];增加鱼腥草(*Houttuynia cordata*)叶绿素含量,对 SOD 和 POD 活性具有抑制作用^[12];在 Cd-Zn 复合处理下,Cd 的添加提高了圆锥南芥(*Arabis paniculata* Franch.)细胞壁中 Zn 的比例,促进了 Zn 向细胞壁中的转移^[13]。因此,重金属复合污染对植物的影响极为复杂,存在着加和、拮抗或协同多种作用^[10,14]。短毛蓼(*Polygonum pubescens* Bl.)是属蓼科的 Mn 超富集植物,目前的研究主要集中在其对 Mn 的富集特征^[15]、Mn 在植物体中的分布^[16]及 Mn 对抗氧化机理^[14]和氮素代谢^[18]的影响上,而重金属复合污染对其生理特征的影响还未见报道。本研究采用水培法探讨了 Mn、Zn 单一以及复合污染对短毛蓼生长及氮素代谢的影响,旨在为利用超富集植物短毛蓼修复 Mn-Zn 复合污染土壤提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 植物培养

供试 Mn 超富集植物短毛蓼幼苗采自广西全州锰矿区。将所采集的短毛蓼幼苗用自来水冲洗干净后采用 1/2 Hoagland 营养液进行预培养, Hoagland 营养液组成为: 2.0 mmol·L⁻¹ Ca(NO₃)₂·4H₂O, 0.10 mmol·L⁻¹ KH₂PO₄, 0.50 mmol·L⁻¹ MgSO₄·7H₂O, 0.10 mmol·L⁻¹ KCl, 0.70 mmol·L⁻¹ K₂SO₄, 0.10 μmol·L⁻¹ H₃BO₃, 0.50 μmol·L⁻¹ MnSO₄·H₂O, 0.50 μmol·L⁻¹ ZnSO₄·7H₂O, 0.20

μmol·L⁻¹ CuSO₄·5H₂O, 0.01 μmol·L⁻¹ (NH₄)₆ Mo₇O₂₄, 0.10 mmol·L⁻¹ Fe-EDTA。

幼苗生长至一定高度后截取上端 5 cm 长的带叶枝条进行第 2 次预培养,待枝条长出比较旺盛的根系后,选取生长一致的植株,移至装有 1/2 Hoagland 营养液的塑料盆(34 cm×22 cm×11 cm)中,然后加 Mn 处理,每盆 3 株,培养溶液体积为 4 L。采用正交法设置 3 个不同浓度的 Mn 和 Zn,共计 9 个处理浓度(表 1)。Mn 以 MnSO₄·H₂O, Zn 以 ZnSO₄·H₂O 的形式加入到 1/2 Hoagland 营养液中,每个处理设 3 个重复,每 3 d 更换 1 次营养液,并用 0.1 mol·L⁻¹ HCl 或 NaOH 调节 pH 至 5.7 左右。培养室温度为 20~26 ℃,空气相对湿度为 60%~70%,光照 14 h,光照强度 300 μmol·m⁻²·s⁻¹,营养液保持 24 h 连续通气,处理 15 d 后收获。

表 1 锰和锌的处理浓度设置(mg·L⁻¹)

Table 1 Treated concentrations of Mn and Zn(mg·L⁻¹)

处理浓度	0 mg·L ⁻¹ Mn	10 mg·L ⁻¹ Mn	100 mg·L ⁻¹ Mn
0 mg·L ⁻¹ Zn	T1	T4	T7
10 mg·L ⁻¹ Zn	T2	T5	T8
100 mg·L ⁻¹ Zn	T3	T6	T9

1.2 实验方法

1.2.1 生物量测定

将植株样品用自来水冲洗干净,然后将根浸入 20 mmol·L⁻¹ EDTA-Na₂ 溶液中交换 20 min,以去除根系表面吸附的 Mn²⁺、Zn²⁺等,用去离子水洗净,吸水纸吸干表面水分,最后用卷尺分别测量株高和根长并称鲜重。将植株样品分为两份,其中一份装入封口密封带,放入-80 ℃冰箱保存备用;另一份样品放至烘箱内,在 105 ℃下杀青 30 min,然后在 70 ℃下烘 48 h 至恒重,用不锈钢粉碎机磨碎,过 60 目尼龙网筛用于 Mn、Zn 含量测定。

1.2.2 酶的提取与活性测定

硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶、谷氨酸脱氢酶的提取与活性测定参照文献[19]的方法。硝酸还原酶以 1 h 内还原 KNO₃ 生成 NO₂ 的微克数表示酶活性,谷氨酰胺合成酶活性以 1 h 内形成 1 μmol γ-谷氨酰基

羟酸的酶量作为 1 个酶活性单位,谷氨酸脱氢酶活性以 $\text{NADH } \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ 蛋白质表示。谷氨酸合酶的提取与测定参照 Sánchez 等的方法^[20],以每分钟反应液减少 $1 \mu\text{mol}$ NADH 所需的酶量定义为 1 个酶活性单位。以上酶的提取和测定均在 $0 \sim 4^\circ\text{C}$ 条件下完成,每个处理 3 次重复。

1.2.3 铵态氮、硝态氮、可溶性蛋白质和游离脯氨酸含量测定

可溶性蛋白质的含量参照 Bradford 的方法测定^[21],使用牛血清蛋白制作标准曲线;铵态氮、硝态氮和游离脯氨酸含量的测定参照王学奎等的方法^[22]。

1.2.4 Mn、Zn 含量的测定

称取 0.50 g 烘干且磨碎的短毛蓼样品于 100 mL 三角瓶中,加入 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ (两者体积比为 $4:1$),消煮至澄清,用去离子水定容后采用原子吸收分光光度计(日立 180-80 型)测定各植物样品中的 Mn、Zn 含量。

1.2.5 转移系数(Transfer factor, TF)的计算:

转移系数(TF)=

$$\frac{\text{地上部分所累积的重金属的含量}(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})}{\text{根部所累积的重金属的含量}(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})}$$

以上所有测定重复 3 次,所得数据用 SPSS 17.0 软件处理,应用 Duncan 新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果

2.1 Mn、Zn 单一及复合处理对短毛蓼生长和叶绿素含量的影响

由表 2 可知,单 Zn 处理(T1、T2、T3)时,短毛蓼的株高和株重随着 Zn 处理浓度的升高而降低,T3 处理后,株高和株重分别为对照的 78%和 56%,差异显

著($P < 0.05$);单 Mn 处理(T1、T4、T7)时,对短毛蓼株高、株重及根长影响不显著($P > 0.05$);在 Mn、Zn 复合处理(T5、T6、T8、T9)时,T5 处理对短毛蓼株高、株重及根长影响不显著($P > 0.05$),而 T6 处理显著($P < 0.05$)抑制了短毛蓼的根长,为对照的 72%。

重金属对短毛蓼的叶绿体也造成影响。由表 2 可知,单 Zn 处理时,T3 处理较对照 T1 显著($P < 0.05$)降低了短毛蓼叶片中的叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a+b 的含量;在 Mn、Zn 复合处理时,T6 处理对短毛蓼叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a+b、类胡萝卜素的含量较对照 T1 无显著($P > 0.05$)变化;而 T9 处理显著($P < 0.05$)提高了短毛蓼叶片中叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a+b 及类胡萝卜素的含量,即较 T3 及 T9 处理时短毛蓼叶片中叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a+b 及类胡萝卜素的含量分别提高了 51.4%、52.3%、51.9%、61.5%。这表明 Zn 对短毛蓼的叶绿素合成有一定的抑制作用,而一定浓度的 Mn 可以缓解 Zn 的毒害。

2.2 Mn、Zn 单一及复合处理对短毛蓼植株 Mn、Zn 含量的影响

由表 3 可知,单 Zn 处理(T1、T2、T3)时,短毛蓼根、茎、叶中 Mn 含量无显著性差异($P > 0.05$);单 Mn 处理(T1、T4、T7)时,根、茎、叶中 Mn 含量随着 Mn 处理浓度的升高而增大,且与对照差异显著($P < 0.05$)。在 Mn、Zn 复合处理时,T6 及 T9 处理显著降低短毛蓼根、叶中 Mn 含量。T9 处理时,根及叶 Mn 含量依次降低 45.6%、35.1%,表明 T6 及 T3 的 Mn、Zn 复合处理抑制了短毛蓼对 Mn 的吸收。而 Mn、Zn 复合处理均显著($P < 0.05$)提高短毛蓼根、茎及叶 Zn 含量,T5 处理时,根茎叶依次提高了 1.44、1.28、1.18 倍,表明 Mn、Zn 复合处理促进了短毛蓼对 Zn 的吸收。Mn、Zn 的转移系数在 T2~T9 处理时均低于 T1 处理。在不同

表 2 Mn、Zn 处理对短毛蓼生长和叶绿素含量的影响

Table 2 Effects of Mn and Zn treatment on the growth and chlorophyll of *P. pubescens* Bl.

处理	株高/cm	株重/g	根长/cm	叶绿素 a/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	叶绿素 b/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	叶绿素 a+b/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	类胡萝卜素/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	叶绿素 a/叶绿素 b
T1	14.9±1.8a	6.0±1.7b	29.8±8.4ab	1.34±0.23a	0.63±0.10a	1.97±0.33ab	0.17±0.03abc	2.14±0.05c
T2	12.1±2.5bc	6.0±2.4b	29.6±5.1ab	1.10±0.18a	0.48±0.08abc	1.58±0.28ab	0.15±0.01bc	2.27±0.04bc
T3	11.5±1.8c	3.4±1.1d	25.2±5.6bc	0.70±0.08b	0.31±0.04c	1.01±0.03c	0.13±0.02c	2.26±0.06bc
T4	14.2±1.8ab	8.7±2.9a	29.2±4.1ab	1.25±0.26a	0.48±0.10abc	1.73±0.37ab	0.16±0.03abc	2.58±0.06a
T5	12.8±1.4abc	5.2±1.9bc	29.7±6.7ab	1.17±0.23a	0.51±0.11ab	1.68±0.34ab	0.17±0.03abc	2.29±0.03bc
T6	12.9±1.8abc	3.7±0.8cd	21.0±4.4c	1.10±0.15a	0.48±0.04abc	1.57±0.20ab	0.20±0.03ab	2.31±0.15bc
T7	13.5±2.1abc	6.6±1.8b	30.9±3.4a	1.05±0.32ab	0.39±0.13bc	1.44±0.46abc	0.16±0.04abc	2.71±0.11a
T8	13.1±1.9abc	5.8±1.4b	31.1±3.0a	1.15±0.22a	0.49±0.11ab	1.64±0.33ab	0.16±0.01abc	2.34±0.04b
T9	12.8±3.0abc	5.3±1.7bc	28.8±3.1ab	1.44±0.04a	0.65±0.06a	2.10±0.10a	0.21±0.01a	2.21±0.16bc

注:表中同列的不同字母表示在 5%水平差异显著,下同;株高、株重(以鲜重计)和根长为各处理的平均值。

Mn-Zn 处理水平下,短毛蓼各部位 Mn 的含量均为叶>茎>根,短毛蓼地上部分的 Mn 含量均高于根部,且短毛蓼的 Mn 转移系数均大于 Zn,证明短毛蓼属于 Mn 超富集植物。

2.3 Mn、Zn 单一及复合处理对短毛蓼硝态氮、铵态氮、游离脯氨酸、可溶性蛋白质含量的影响

由表 4 可知,Zn、Mn 单一以及复合处理,短毛蓼根系和叶片中硝态氮含量均低于对照(T1)。在单 Zn (T1、T2、T3)及单 Mn(T1、T4、T7)处理下,短毛蓼叶片及根中硝态氮的含量均显著($P<0.05$)低于对照,即 T1 处理时叶片及根中硝态氮的含量分别为 7.1 、 $15.4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,其他处理叶片及根中硝态氮含量分别在 $2.5 \sim 6.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、 $4.6 \sim 15.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 之间;Mn 处理浓度一定,随着 Zn 处理浓度的增加,根中硝态氮的含量均显著($P<0.05$)降低且叶片中铵态氮均高于对照,在 Mn 处理浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,添加 10 、 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Zn,根系中铵态氮分别为对照的 1.87 、 1.78 倍,表明 Zn 添加加速了叶片中铵态氮的累积。Zn、Mn 处理,短毛蓼根系和叶

片中游离脯氨酸含量均高于对照(T1),且 Zn 浓度越高,根系和叶片中游离脯氨酸含量越高,表明 Zn 添加增加了短毛蓼的胁迫性。 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Zn 添加显著($P<0.05$)增加了根中可溶性蛋白质的含量,而 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn 对叶片中蛋白质含量无显著影响($P>0.05$)。

2.4 Mn、Zn 单一及复合处理对短毛蓼叶片 GOGAT、GS、NR、GDH 酶活性的影响

由表 5 可知, $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Zn 处理提高了叶片和根系中 GOGAT、GS 活性,其中 T3、T9 时,GOGAT、GS 显著升高($P<0.05$)。在 T3 处理下,短毛蓼叶片及根中 GOGAT 活性分别为对照的 2.11 、 4.47 倍;叶片及根中 GS 的活性分别为对照的 1.74 、 2.72 倍;NR、GDH 活性也有不同程度的提高,T3 处理显著($P<0.05$)提高了短毛蓼根 GDH 的活性,为对照的 1.88 倍。在 T9 处理下,短毛蓼叶片及根中 GOGAT 活性分别为对照(T1)的 3.57 、 4.64 倍;GS 活性较对照也有显著($P<0.05$)提高;叶片 NR 活性及根 GDH 活性分别为对照的 2.56 、 3.19 倍。表明 GOGAT、GS、NR、GDH 酶活性受 Zn、Mn

表 3 Mn、Zn 处理对短毛蓼植株各部位 Mn、Zn 含量的影响

Table 3 The contents of Mn and Zn in the *P. pubescens* Bl.

处理	Mn 含量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$			Zn 含量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$			TF _{Mn}	TF _{Zn}
	根	茎	叶	根	茎	叶		
T1	64.9±3.9f	99.6±5.8g	101.4±8.1f	270.0±16.0f	185.8±7.9g	134.9±16.3g	24.8	1.7
T2	67.8±4.9f	85.8±10.2g	103.6±8.3f	3 216.1±153.0d	3 136.5±202.0d	3 181.8±72.4c	2.4	1.0
T3	65.5±4.0f	92.3±6.8g	103.3±8.9f	5 673.1±216.7a	12 255.0±2 198.8a	6 394.9±344.4a	1.5	1.4
T4	1 016.0±71.6d	1 561.9±135.7f	9 592.5±628.0d	1 493.0±99.2e	1 244.2±102.4f	1 175.0±102.2f	5.5	1.2
T5	1 065.2±51.7cd	3 076.4±229.4d	5 526.6±297.9e	3 642±154.2c	2 831.4±169.0d	2 567.2±160.6d	4.1	1.3
T6	733.3±21.9e	2 468.6±300.5e	5 506.4±528.9e	5 020.4±335.9b	9 966.7±383.8b	6 075.0±330.1a	5.5	1.3
T7	2 155.9±175.9a	5 015.2±213.0c	30 234.5±1 521.9b	1 438.8±114.7e	1 289.3±115.4f	1 131.0±83.0f	8.2	1.2
T8	1 582.1±48.7b	6 905.6±54.1a	31 670.8±1 571.1a	3 742.3±266.5c	2 376.8±80.4e	2 088.1±132.9e	12.2	1.5
T9	1 172.5±62.5c	5 430.1±393.2b	19 609.8±1 571.1c	3 804.3±137.1c	5 107.3±310.3c	4 537.6±247.9b	10.7	1.0

表 4 Mn、Zn 处理对短毛蓼叶片及根中硝态氮、铵态氮、游离脯氨酸和可溶性蛋白质的影响

Table 4 Effects of Mn and Zn treatment on contents of nitrate, ammonium, free and soluble proteins in shoots and roots in *P. pubescens* Bl.

处理	硝态氮/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$		铵态氮/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$		游离脯氨酸/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$		可溶性蛋白质/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	
	叶片	根	叶片	根	叶片	根	叶片	根
T1	7.1±0.2a	15.4±0.6a	447.5±12.3g	344.5±23.0e	17.0±1.6e	21.0±1.8e	20.2±0.2b	24.6±2.9bc
T2	4.5±0.4c	13.7±0.4c	534.4±5.9f	363.0±13.2e	20.5±0.7d	36.6±5.9d	13.6±0.9c	24.3±2.8bc
T3	4.4±0.3c	14.3±0.9bc	337.1±35.7h	176.0±14.1g	21.0±0.8d	70.9±3.6a	19.6±1.0b	71.4±1.0a
T4	4.6±0.4c	15.0±0.7ab	824.8±12.8e	517.2±11.9c	19.2±1.0de	22.3±0.7e	21.1±2.0ab	25.2±0.1bc
T5	2.5±0.1e	10.3±0.5d	973.1±7.9c	273.1±9.6f	20.0±1.7d	26.6±1.2e	19.6±0.8b	21.8±1.9c
T6	6.2±0.2b	7.7±0.6e	793.5±14.7e	128.8±13.8h	24.3±0.9c	46.4±4.0c	23.2±2.3a	70.0±1.6a
T7	2.6±0.3de	13.7±0.7c	1 135.7±27.7b	392.7±10.5d	26.8±1.7bc	23.4±0.7e	18.8±0.9b	23.5±2.3c
T8	4.4±0.3c	5.4±0.4f	1 407.9±16.8a	735.6±10.4a	28.9±1.8b	24.2±3.0e	19.5±0.5b	27.3±1.8b
T9	3.0±0.2d	4.6±0.1f	860.9±13.9d	697.5±29.4b	37.8±2.2a	60.3±0.6b	19.6±1.5b	73.4±1.0a

表 5 Mn、Zn 处理对短毛蓼叶片及根中 NR、GS、GOGAT、GDH 酶活性的影响

Table 5 Effects of Mn and Zn treatment on activities of NR, GS, GOGAT and GDH in leaves and roots of *P. pubescens* Bl.

处理	GOGAT 活性/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$		GS 活性/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$		NR 活性/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$		GDH 活性/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$	
	叶片	根	叶片	根	叶片	根	叶片	根
T1	7.9±0.8e	10.4±2.0d	99.8±2.1g	115.9±2.4c	16.0±0.5h	17.0±0.9e	12.5±1.2c	8.9±1.9e
T2	10.1±1.6e	17.1±3.2c	115.4±3.4f	99.8±2.0c	35.7±3.3f	20.9±0.4d	11.5±1.3cd	11.6±1.5de
T3	16.7±1.7c	46.5±1.3a	173.6±1.6b	315.6±12.3b	49.8±1.8c	70.9±1.6a	10.3±1.6cd	16.7±1.2c
T4	8.5±0.2e	12.7±1.2d	112.7±5.9f	101.6±6.1c	19.5±1.2g	18.4±0.2e	16.3±0.7b	13.2±0.7cd
T5	9.4±2.3e	11.4±1.7d	148.5±1.4c	86.0±3.8c	55.1±1.9b	24.7±1.3c	5.7±1.6e	5.1±0.7f
T6	19.7±1.7b	31.1±0.1b	187.6±3.1a	347.6±41.9a	68.5±1.0a	31.3±1.1b	19.1±1.4b	24.4±4.7b
T7	9.6±1.4e	11.7±0.6d	123.8±2.2e	107.9±7.1c	21.4±1.2g	24.4±2.0c	17.6±2.5b	15.1±0.5cd
T8	13.3±1.5d	15.9±2.3c	142.8±0.4d	112.5±6.2c	45.6±0.7d	21.3±1.1d	8.2±1.3de	3.0±0.1f
T9	28.2±2.5a	48.3±1.9a	146.0±1.2cd	327.2±16.4ab	41.0±1.5e	20.9±1.0d	27.6±3.1a	28.4±2.2a

的影响较大。

3 讨论

本研究结果表明,单 Zn 处理后抑制了短毛蓼的生长,而单 Mn 处理对短毛蓼生长影响不显著 ($P>0.05$),添加 Mn 能在一定程度上缓解 Zn 对短毛蓼的生长胁迫。有研究表明,单铁或单锰处理均抑制美洲商陆种子发芽,两者交互起来能起到互相缓解的作用^[23],高浓度锌则明显阻碍叶绿素的合成,抑制鱼腥草生长^[11],这与本研究发现的单 Zn 污染下,高浓度的 Zn 抑制短毛蓼生长相似。铅富集植物假繁缕在 Pb-Zn 复合胁迫下,叶绿素 a、叶绿素 b 含量以及叶绿素总量呈上升趋势^[24],而 Pb-Zn 交互作用增加了鱼腥草叶绿素含量^[11],这与本研究的 Mn、Zn 复合污染较单 Mn 或单 Zn 污染更有利于叶绿素的合成而 Mn、Zn 交互作用提高了短毛蓼叶绿素含量的结果相类似。本研究结果表明,当 Zn 处理浓度不变、Mn 浓度升高时,短毛蓼植株各部分的 Zn 含量都明显下降,表明 Mn 处理抑制了短毛蓼对 Zn 的吸收,这与加锰处理抑制美洲商陆根系对铁的吸收相似^[23],这可能是 Mn 在短毛蓼体内竞争载体的能力明显高于 Zn,从而导致短毛蓼对 Zn 吸收的减少。

NO_3^- 是植物生长重要 N 源之一,在植物体内, NR 可催化 NO_3^- 转化为 NO_2^- , 是植物吸收利用 NO_3^- 过程中的第一个酶, NR 可直接调节 NO_3^- 的还原,从而调节氮代谢^[25]。本研究结果表明, Mn、Zn 复合处理降低了短毛蓼根系及叶片内硝态氮含量,这与本课题组单 Mn 处理短毛蓼的研究结果类似^[18]。在正常供氮情况下,植物主要利用 GS-GOGAT 途径同化无机氮^[26]以及通过 GDH 补充谷氨酸库来缓解氨毒^[27]。本研究表明,当

Zn 的浓度为 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,短毛蓼叶片中铵态氮的含量显著增加,造成 NH_4^+ 的大量累积,引起 NH_4^+ 毒害。而 Zn 的浓度为 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 显著降低了叶片铵态氮含量,提高了叶片和根系中 GS、GOGAT 的活性 ($P<0.05$)。 NH_4^+ 含量的降低可能是由于 GS、GOGAT 基因的表达受到诱导,其活性增强的结果。即 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Zn 还不能强烈地刺激 GS、GOGAT 的活性,当达到 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时显著刺激了 GS、GOGAT 的活性, GS-GOGAT 把 NH_4^+ 转化为 NO_3^- , 从而使植物体内 NH_4^+ 的含量降低。当植物体中 NH_4^+ 的含量累积到一定程度后,植物体可以通过 GDH 补充谷氨酸库来缓解氨毒^[27]。有研究表明, GDH 与 GS 活性在花生生长发育过程中表现出相反的关系^[28], 这与本研究的结果“在 T5 及 T8 处理时, GDH 的活性显著降低, 而 GS、GOGAT 活性较高”相似,且此时产生的 NH_4^+ 毒害可通过高活性的 GS-GOGAT 途径消除,无需启动 GDH。

可溶性蛋白是细胞基质及各种细胞器基质的主要组成成分,在细胞生理代谢过程中有重要的催化功能,可溶性蛋白质含量能在一定程度上反映氮素代谢的情况^[29]。Zn 是影响蛋白质合成最为突出的微量元素^[30],本实验结果表明,在一定浓度的 Mn 处理下,可溶性蛋白质的含量随 Zn 浓度的提高而增加。游离脯氨酸含量的增加则起到渗透调节物质的作用^[29],同时脯氨酸的累积还可以缓解氨毒^[18]。在 Mn、Zn 复合处理下, Zn 的浓度为 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 叶片及根中游离脯氨酸含量显著 ($P<0.05$) 增加,短毛蓼体内游离脯氨酸含量的增加可以缓解高浓度 Zn 对其造成的伤害。

4 结论

(1)短毛蓼在 Mn、Zn 复合污染处理下对 Mn 具有

较高的耐受性,对 Zn 则比较敏感,100 mg·L⁻¹ Zn 处理显著($P<0.05$)抑制了短毛蓼的生长,Mn 添加能缓解 Zn 对短毛蓼生长的抑制作用。

(2)Zn 抑制短毛蓼对 Mn 的吸收,在 Mn 的处理浓度一定的情况下,短毛蓼转移 Mn 的能力随着 Zn 浓度的升高而降低,而高浓度的 Mn 显著抑制了短毛蓼对 Zn 的吸收,表明 Mn、Zn 两元素对短毛蓼的吸收和积累存在拮抗作用。

(3)在一定浓度 Mn 处理范围内,高浓度(100 mg·L⁻¹)Zn 处理可提高短毛蓼叶片及根中 GS、GOGAT、NR、GDH 的活性,使游离脯氨酸、可溶性蛋白质的含量增加,这都可以有效缓解 NH₄⁺对植物体的伤害。

参考文献:

- [1] Gang W, Hubiao K, Xiaoyang Z, et al. A critical review on the bio-removal of hazardous heavy metals from contaminated soils: Issues, progress, eco-environmental concerns and opportunities[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 174: 1-8.
- [2] Jose E, Claude L, Stephan R, et al. Heavy metal concentration survey in soils and plants of the Les Malines mining district (Southern France): Implications for soil restoration[J]. *Water Air Soil Pollution*, 2011, 216: 485-504.
- [3] 田小霞, 孟林, 毛培春, 等. 重金属 Cd、Zn 对长穗偃麦草生理生化特性的影响及其积累能力研究[J]. *农业环境科学学报*, 2012, 31(8): 1483-1490.
TIAN Xiao-xia, MENG Lin, MAO Pei-chun, et al. Effects of Cd and Zn on the physiological and biochemical characteristics and accumulation abilities of *Elytrigia elongate*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(8): 1483-1490.
- [4] Min Q, Chao C, Yi-zong H, et al. Characterization of soil heavy metal contamination and potential health risk in metropolitan region of Northern China[J]. *Environ Monit Assess*, 2011, 172: 353-365.
- [5] DOU C M, FU X P, CHEN X C, et al. Accumulation and interaction of calcium and manganese in *Phytolacca Americana*[J]. *Plant Science*, 2009, 177: 601-606.
- [6] 李秀娟, 仇硕, 赵健, 等. 4 种园林植物对土壤重金属 Mn 的吸收及修复研究[J]. *广西农业科学*, 2010, 41(9): 951-954.
LI Xiu-juan, QIU Shuo, ZHAO Jian, et al. Studies on manganese absorption and soil remediation of four ornamental plants[J]. *Guangxi Agricultural Sciences*, 2010, 41(9): 951-954.
- [7] 贾若凌. 重金属 Zn 对菊芋幼叶生理生化指标的影响[J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(12): 7354-7355, 7358.
JIA Ruo-ling. The effect of Zn on physiological and biochemical characters of leaves of *Helianthus tuberosus*[J]. *Journal of Anhui Agri Sci*, 2012, 40(12): 7354-7355, 7358.
- [8] 黄芳芳. 广西桂平锰矿露天矿区的生态环境与治理修复研究[D]. 桂林: 广西师范大学, 2011: 31-40.
HUANG Fang-fang. Ecological environment and governance restoration of Guiping open-pit manganese mining area in Guangxi[D]. Guilin: Guangxi Normal University, 2011: 31-40.
- [9] 曹心德, 魏晓欣, 代革联, 等. 土壤重金属复合污染及其化学钝化修复技术研究进展[J]. *环境工程学报*, 2011, 5(7): 1441-1452.
CAO Xin-de, WEI Xiao-xin, DAI Ge-lian, et al. Combined pollution of multiple heavy metals and their chemical immobilization in contaminated soils: A review[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2011, 5(7): 1141-1453.
- [10] 刘家女, 周启星, 孙挺. Cd-Pb 复合污染条件下 3 种花卉植物的生长反应及超积累特性研究[J]. *环境科学学报*, 2006, 26(12): 2039-2044.
LIU Jia-nü, ZHOU Qi-xing, SUN Ting. Growing responses and hyper-accumulating characteristics of three ornamental plants to Cd-Pb combined pollution[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2006, 26(12): 2039-2044.
- [11] 胡宗达, 杨远祥, 朱雪梅, 等. Pb、Zn 对超富集植物(小鳞苔草)抗氧化酶活性的影响[J]. *水土保持学报*, 2007, 21(6): 86-91.
HU Zong-da, YANG Yuan-xiang, ZHU Xue-mei, et al. Influence of Pb, Zn on activity of SOD, POD and CAT within roots and leaves of hyperaccumulator (*Carex gentiles* Franch.) [J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2007, 21(6): 86-91.
- [12] 李铮铮, 伍钧, 唐亚, 等. 铅、锌及其交互作用对鱼腥草(*Houttuynia cordata*)叶绿素含量及抗氧化酶系统的影响[J]. *生态学报*, 2007, 27(12): 5441-5445.
LI Zheng-zheng, WU Jun, TANG Ya, et al. Effect of Pb, Zn and their interactions on the chlorophyll and an tiioxidant enzyme systems of *Houttuynia cordata* Thunb[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(12): 5441-5445.
- [13] 于方明, 汤叶涛, 周小勇, 等. 镉对圆锥南芥锌的吸收、亚细胞分布和化学形态影响[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2010, 49(4): 118-124.
YU Fang-ming, TANG Ye-tao, ZHOU Xiao-yong, et al. Effects of cadmium on uptake, subcellular distribution and chemical form of zinc in *Arabidopsis paniculata* Franch[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2010, 49(4): 118-124.
- [14] Ke-jian P, Chun-ling L, Wu-xin Y, et al. Manganese uptake and interactions with cadmium in the hyperaccumulator: *Phytolacca Americana* L[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 154: 674-681.
- [15] 邓华, 李明顺, 陈英旭. 超富集植物短毛蓼对锰的富集特征[J]. *生态学报*, 2009, 29(10): 5450-5454.
DENG Hua, LI Ming-shun, CHEN Ying-xu. Accumulating characteristics of manganese by *Polygonum pubescens* Blume[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(10): 5450-5454.
- [16] 邓华, 李明顺, 陈英旭, 等. 锰在短毛蓼不同器官中的亚细胞分布及化学形态[J]. *广西师范大学学报(自然科学版)*, 2010, 28(1): 58-62.
DENG Hua, LI Ming-shun, CHEN Ying-xu, et al. Subcellular distribution and chemical fractions of manganese in hyperaccumulator *Polygonum pubescens* Blume[J]. *Journal of Guangxi Normal University: Natural Science Edition*, 2010, 28(1): 58-62.
- [17] 李燕, 刘可慧, 于方明, 等. Mn 对超富集植物短毛蓼(*Polygonum*

- pubescens* Blume)抗氧化机理的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(12):2422-2427.
- LI Yan, LIU Ke-hui, YU Fang-ming, et al. Effects of manganese on enzymatic and non-enzymatic antioxidative defenses of the hyperaccumulator *Polygonum pubescens* Blume[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(12):2422-2427.
- [18] 于方明, 李 燕, 刘可慧, 等. Mn对超富集植物短毛蓼和水蓼生长、Mn吸收及氮素代谢的影响[J]. 环境科学学报, 2011, 31(8):1783-1789.
- YU Fang-ming, LI Yan, LIU Ke-hui, et al. Effects of manganese on the growth and nitrogen metabolism in hyperaccumulators *Polygonum pubescens* Blume and *Polygonum hydropiper* L. [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2011, 31(8):1783-1789.
- [19] 中国科学院上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京:科学出版社, 1999:152-154, 156-158.
- Institute of Plant Physiology & Ecology, Shanghai Institutes for Biological Science. The guidance of modern plant physiology experiments[M]. Beijing: Science Press, 1999:152-154, 156-158.
- [20] Sánchez E, Rivero Rosa M, Ruiz Juan M, et al. Changes in biomass, enzymatic activity and protein concentration in roots and leaves of green bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike) under high NH_4NO_3 application rates[J]. *Scientia Horticulturae*, 2004, 99(3-4):237-248.
- [21] Bradford M. A rapid method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1):248-254.
- [22] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 第二版. 北京:高等教育出版社, 2006:125-128.
- WANG Xue-kui. The experimental principle and technology for plant physiology and biochemistry[M]. The second edition. Beijing: Higher Education Press, 2006:125-128.
- [23] 张健平, 刘 鹏, 金洋洋, 等. 铁锰复合污染对美洲商陆生物毒性及超积累特性的影响[J]. 水土保持学报, 2010, 24(6):145-149.
- ZHANG Jian-ping, LIU Peng, JIN Yang-yang, et al. Effect of Fe-Mn combined pollution on biological toxicity and hyperaccumulation of *Phytolacca Americana*[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2010, 24(6):145-149.
- [24] 李 珊, 程 舟, 杨晓伶, 等. 铅、锌胁迫对栝楼幼苗生长及抗逆生理因子的影响[J]. 生态学杂志, 2008, 27(2):278-281.
- LI Shan, CHENG Zhou, YANG Xiao-ling, et al. Effects of Pb and Zn stress on *Trichosanthes kirilow* seedlings growth and stress-resistance physiological factors[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2008, 27(2):278-281.
- [25] 刘 丽, 甘志军, 王宪泽. 植物氮代谢硝酸还原酶水平调控机制的研究进展[J]. 西北植物学报, 2004, 24(7):1355-1361.
- LIU Li, GAN Zhi-jun, WANG Xian-ze. Advances of studies on the regulation of nitrate metabolism of plants at nitrate reductase level[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2004, 24(7):1355-1361.
- [26] 孙秋玲, 戴思兰, 张春英, 等. 菌根真菌促进植物吸收利用氮素机制的研究进展[J]. 生态学杂志, 2012, 31(5):1302-1310.
- SUN Qiu-ling, DAI Si-lan, ZHANG Chun-ying, et al. Mechanisms of mycorrhizal fungi in promoting nitrogen uptake and utilization by plants: A review[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2012, 31(5):1302-1310.
- [27] 于方明, 仇荣亮, 周小勇, 等. 隔对超富集植物圆锥南芥氮素代谢的影响研究[J]. 土壤学报, 2008, 45(3):497-502.
- YU Fang-ming, QIU Rong-liang, ZHOU Xiao-yong, et al. Effects of cadmium on activities of key nitrogen metabolism enzymes in leaves of *Arabis paniculata* Franch[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2008, 45(3):497-502.
- [28] 张智猛, 万书波, 宁堂原, 等. 氮素水平对花生氮素代谢及相关酶活性的影响[J]. 植物生态学报, 2008, 32(6):1407-1416.
- ZHANG Zhi-meng, WAN Shu-bo, NING Tang-yuan, et al. Effects of nitrogen level on nitrogen metabolism and correlating enzyme activity in peanut[J]. *Journal of Plant Ecology*, 2008, 32(6):1407-1416.
- [29] 秦 学, 曹翠玲, 梁宗锁. NaHSO_3 对小麦生殖生长期氮素代谢的影响[J]. 土壤通报, 2005, 36(6):913-916.
- QIN Xue, CAO Cui-ling, LIANG Zong-suo. Effect of NaHSO_3 on nitrogen metabolism of wheat at reproductive stage[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2005, 36(6):913-916.
- [30] 施木田, 陈如凯. 锌钼营养对苦瓜产量、品质及叶片氮素代谢的影响[J]. 热带作物学报, 2003, 24(4):57-61.
- SHI Mu-tian, CHEN Ru-kai. Effect of zinc and molybdenum nutrition on yield and quality and nitrogen metabolism in leaves of *Balsam pear* [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2003, 24(4):57-61.