

Mn 对超富集植物短毛蓼(*Polygonum pubescens* Blume)抗氧化机理的影响

李 燕¹, 刘可慧², 于方明^{1,3*}, 邓 华^{1,3}, 杨栋林⁴, 周振明^{1,3}, 刘 华¹, 李明顺^{1,3}

(1.广西师范大学环境与资源学院,广西 桂林 541004;2.桂林电子科技大学生命与环境科学学院,广西 桂林 541004;3.广西环境工程与保护评价重点实验室,广西 桂林 541004;4.广西师范大学生命科学学院,广西 桂林 541004)

摘要:采用水培的方法,研究了不同浓度 Mn(0、0.5、1、2、4、8 mmol·L⁻¹)对新发现的 Mn 超富集植物短毛蓼(*Polygonum pubescens* Blume)生长、Mn 吸收及 Mn 对其抗氧化酶和非酶系统的影响。结果表明,锰处理显著增加了($P<0.05$)短毛蓼根、茎、叶中 Mn 的含量,锰处理还引起了短毛蓼叶片中过氧化氢(H₂O₂)和丙二醛(MDA)的积累。当 Mn 处理浓度大于 1 mmol·L⁻¹时,显著降低了短毛蓼的株高、株重($P<0.05$);当 Mn 处理浓度为 8 mmol·L⁻¹时,短毛蓼叶片中叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a+b 含量最低,与对照差异显著($P<0.05$)。Mn 处理显著提高了短毛蓼叶片中超氧物歧化酶(SOD)活性($P<0.05$),而过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)的活性呈先升后降趋势,表明 Mn 处理打破了短毛蓼活性氧物质的正常代谢,并启动了抗氧化酶系统。8 mmol·L⁻¹的 Mn 处理,显著提高了短毛蓼叶片中巯基(-SH)、还原型谷胱甘肽(GSH)的含量($P<0.05$),比对照分别提高了 10.6% 和 20%,表明-SH、GSH 在短毛蓼缓解 Mn 毒害的过程中起着重要作用。

关键词:锰;短毛蓼;抗氧化酶;非酶物质

中图分类号:X503.233 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2011)12-2422-06

Effects of Manganese on Enzymatic and Non-enzymatic Antioxidative Defenses of the Hyperaccumulator *Polygonum pubescens* Blume

LI Yan¹, LIU Ke-hui², YU Fang-ming^{1,3*}, DENG Hua^{1,3}, YANG Dong-lin⁴, ZHOU Zhen-ming^{1,3}, LIU Hua¹, LI Ming-shun^{1,3}

(1. School of Environmental Engineering, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China; 2. College of Life and Environmental Science, Guilin University of Electronic Technology, Guilin 541004, China; 3. Guangxi Key Laboratory of Environmental Engineering, Protection and Assessment, Guilin 541004, China; 4. College of Life Science, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

Abstract: The effects of manganese(Mn) on various enzymatic antioxidants and non-enzymatic antioxidants in *Polygonum pubescens* Blume were studied. *Polygonum pubescens* Blume a newly identified Mn hyperaccumulator, was grown in hydroponic culture added with various Mn concentrations(0, 0.5, 1, 2, 4, 8 mmol·L⁻¹) for 8 days. Plant leaves were analyzed for contents of glutathione(GSH), phytochelatins(PCs) and total acid soluble SH, chlorophyll, malondialdehyde(MDA) and activities of superoxide dismutase(SOD), peroxidase(POD), catalase(CAT) and ascorbate peroxidase(APX). Research findings showed that plant height and biomass had significantly($P<0.05$) decreased with Mn concentrations beyond 1 mmol·L⁻¹; while chlorophyll contents did not change significantly($P<0.05$) until Mn concentration reached 8 mmol·L⁻¹. The content of Mn in the tissue of leaves, roots and stems were increased with the increment of Mn treatment concentrations, and the Mn concentration in the leaves were higher than that in the stems and roots under all treatments. Mn pollution induced antioxidant stress which expressed as the accumulation of H₂O₂, and MDA in plant tissues. Mn treatment raised superoxide dismutase(SOD) activity, however, activities of peroxidase(POD), catalase(CAT) and ascorbate peroxidase(APX) in leaves firstly rose and then dropped with Mn exposure, showing that the enzymatic system was interrupted. The contents of GSH, and -SH rose with the increment of Mn treatment concentrations. Compared

收稿日期:2010-12-04

基金项目:国家自然科学基金项目(41161057);广西教育厅项目(200707MS048;200807LX043;201010LX129);广西环境科学重点学科项目;桂林电子科技大学博士启动基金项目(No. Z20718);广西师范大学博士启动基金项目;广西环境工程与保护评价重点实验室项目

作者简介:李 燕(1983—),女,硕士研究生,主要从事环境毒理学与土壤污染生物修复的研究。E-mail:ciw_liyan@sohu.com

* 通讯作者:于方明 E-mail:Fmyu1215@163.com

with the control, the contents of GSH and -SH in leaves increased significant ($P<0.05$) under high Mn exposure ($8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), indicating that the non-enzymatic antioxidants (-SH, GSH) played an important role in the detoxification of Mn in this plant.

Keywords: manganese; *Polygonum pubescens* Blume; enzymatic antioxidants; non-enzymatic antioxidants

Mn 是植物必需的营养元素，但过量的 Mn 会加速植物体中活性氧物质 (reactive oxygen species, ROS) 的生成，破坏植物细胞的质膜、蛋白质和 DNA，造成脂质过氧化，导致氧化胁迫^[1-2]。植物受到 ROS 胁迫后，可以通过体内的抗氧化系统主要包括酶类物质 (SOD、CAT、POD、APX、GR 等) 和非酶类物质 (GSH、AsA、-SH、半胱氨酸等) 来维持自身正常的活性氧水平，从而降低活性氧的损害^[3]。

超富集植物因对重金属有较强的耐性而成为重金属污染土壤修复材料的首选。迄今为止，国内外对超富集植物进行了大量的有关毒理和生理机制方面的研究，但主要集中在 Cd、Pb、Ni、As 等超富集植物上^[4-6]，对 Mn 超富集植物的研究则较少。短毛蓼是国内新发现的 Mn 超富集植物，有关研究主要集中在其对 Mn 的富集特征和亚细胞分布上^[7-9]。虽然对其他 Mn 的超富集植物的抗氧化系统的研究已有报道^[10]，但对短毛蓼耐 Mn 的抗氧化机理尚未见报道。因此，本研究采用水培的方式，通过不同浓度 Mn 处理短毛蓼，研究了短毛蓼对 Mn 吸收以及 Mn 对短毛蓼生长、叶绿素含量、抗氧化酶 (SOD、CAT、POD、APX) 活性变化和非酶类物质 (GSH、-SH、PCs) 含量变化的影响，试图揭示短毛蓼在 Mn 胁迫下的抗氧化机理，为超富集植物的解毒机制研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 植物培养

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和蒸馏水冲洗干净后，采用 1/2 Hoagland 营养液进行预培养。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二次预培养，待枝条长出旺盛根系后，选取生长一致的植株，移至装有 4 L 1/2 Hoagland 营养液的黑色塑料盆 (34 cm×22 cm×11 cm) 中进行加 Mn 处理，每盆 3 株。共设 6 个 Mn 处理浓度 ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)：0 (CK)、0.5、1、2、4、8 (Mn 以 $\text{MnSO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ 形式加入，单 Mn^{2+} 计算)。每个处理设 3 次重复，营养液 24 h 保持连续通气，每 3 d 更换 1 次，并用 0.1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 HCl 或 NaOH 调节 pH 至 5.7 左右。培养室温度为 20~26 °C，相对湿度为 60%~70%，

每日光照 14 h，处理 8 d 后收获。

1.2 试验方法

1.2.1 生物量

将植株样品用自来水冲洗干净后，浸入 20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 EDTA-Na₂ 溶液中交换 20 min，以去除根系表面吸附的 Mn^{2+} ，然后用去离子水洗净，再用吸水纸吸干表面水分，用卷尺分别量其株高和根长并称鲜重。随后，将植物样品的根和叶片分为两部分，其中一部分装入封口密封袋，放入-20 °C 冰箱保存备用；另一部分植物样品的根和叶片连同植物的茎一起放至烘箱内，经 105 °C 杀青 30 min 后，在 70 °C 下烘 48 h 至恒重。烘干的植物样品用不锈钢粉碎机磨碎，过 60 目尼龙网筛用于 Mn 含量测定。

1.2.2 酶的提取与活性测定

称取短毛蓼叶片 0.100 g，加入 0.1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲液 8 mL [pH=7.0，内含 0.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的乙二胺四乙酸 (EDTA)，1% 的聚乙烯吡咯烷酮 (PVP)] 和少量石英砂，用玻璃研钵研磨成匀浆，在 4 °C、10 000 g 下离心 15 min，上清液为粗酶液^[11]，用于 SOD、CAT、POD、APX 活性的测定。

SOD、POD、CAT 活性测定参照李合生等^[12]的方法；APX 测定采用 Cao 等^[13]的方法。

1.2.3 叶绿素、MDA、 H_2O_2 及 SH、GSH、PCs 含量的测定

叶绿素含量测定采用 95% 乙醇提取-分光光度法^[12]，MDA 含量测定参照中国科学院上海植物生理研究所介绍的方法^[14]， H_2O_2 含量测定参照植物生理学实验指导^[15]的方法。SH、GSH、植物络合素 (PCs) 含量的测定参照文献[16]的方法。

1.2.4 Mn 含量测定

称取 0.250 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 3:1)，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 含量。

1.2.5 数据处理

以上所有测定至少重复 3 次，所得数据用 SPSS 13.0 软件处理，应用 Duncan 新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 Mn 对短毛蓼 Mn 含量及生物量的影响

从表 1 可以看出, 随着 Mn 处理浓度的增加, 短毛蓼的株高、株重和根长呈下降趋势。在 Mn 处理浓度低于 1 mmol·L⁻¹ 时,Mn 对短毛蓼生物量的影响不显著($P>0.05$);2~8 mmol·L⁻¹ 的 Mn 处理显著降低了短毛蓼的株高、株重和根长($P<0.05$), 在 Mn 添加浓度为 8 mmol·L⁻¹ 时, 短毛蓼的株高、株重和根长分别为对照的 74.77%、53.85% 和 65.56%。短毛蓼根、茎、叶中 Mn 含量随着 Mn 处理浓度的增加而显著增加($P<0.05$), 在 8 mmol·L⁻¹ 处理下达到最大值, 且 Mn 的含量为叶>茎>根, 即地上部分高于根系, 这从侧面证明了短毛蓼为 Mn 超富集植物。

2.2 Mn 对短毛蓼叶绿素含量的影响

从表 2 可以看出, 叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a+b、叶绿素 a/叶绿素 b 在 Mn 处理浓度为 0.5、2 mmol·L⁻¹ 时与对照间差异不显著($P>0.05$), 但 Mn 处理浓度为 1 mmol·L⁻¹ 时显著降低了短毛蓼叶绿素 a、叶绿素 a+b 的含量; 当 Mn 处理浓度为 8 mmol·L⁻¹ 时, 短毛蓼叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a+b 含量均显著低于对照($P<0.05$), 表明 8 mmol·L⁻¹ 的 Mn 处理破坏了短毛蓼叶绿体结构, 显著抑制了短毛蓼叶绿素的合成。但 Mn 对短毛蓼的类胡萝卜素含量的影响不显著($P>0.05$)。

2.3 Mn 对短毛蓼抗氧化系统的影响

由表 3 可知, Mn 处理显著提高了短毛蓼叶片中 SOD 活性($P<0.05$), 当 Mn 处理浓度为 8 mmol·L⁻¹ 时, SOD 活性最高, 为对照的 1.48 倍。POD 和 APX 活

表 1 Mn 处理对短毛蓼 Mn 含量及生物量的影响

Table 1 Effects of Mn treatment on the content of Mn and biomass of *P. pubescens*

Mn 浓度/mmol·L ⁻¹	Mn 含量/mg·kg ⁻¹			相对含量		株高/cm	株重/g	根长/cm
	根	茎	叶	茎/根(S/R)	叶/根(L/R)			
0	33.2±2.7e	54.4±9.2e	300.3±76.4d	1.6	9.0	11.1±1.0a	2.6±0.2a	36.3±4.1a
0.5	1 566.1±164.1d	4 796.1±541.7d	23 521.8±3 919.7c	3.1	15.0	10.8±2.1a	2.4±1.0ab	35.1±4.1ab
1	1 906.5±94.1c	7 139.2±629.5c	30 974.2±1 725.3b	3.7	16.2	10.6±1.9a	2.3±1.1ab	29.4±7.1bc
2	2 174.2±44.1b	9 710.5±1 291.3b	35 690.3±3 620.9b	4.5	16.4	8.9±0.9b	1.7±0.4bc	28.5±4.5c
4	1 932.7±70.7c	11 922.6±1 435.6b	46 903.1±3 120.6a	6.2	24.3	8.5±1.2b	1.5±0.2c	26.2±5.4c
8	3 637.6±123.1a	18 066.7±2 380.1a	44 175.9±2 993.6a	5.0	12.1	8.3±0.3b	1.4±0.3c	23.8±4.6c

注: 株高、株重和根长为各处理的平均值($n=3$), 以鲜重计。表中同列数据后不同字母表示在 5% 水平差异显著, 下同。

表 2 Mn 对短毛蓼叶绿素含量的影响

Table 2 Effects of Mn on the content of chlorophyll in the leaves of *P. pubescens*

Mn 浓度/mmol·L ⁻¹	叶绿素 a/mg·g ⁻¹	叶绿素 b/mg·g ⁻¹	叶绿素 a+b/mg·g ⁻¹	类胡萝卜素/mg·g ⁻¹	叶绿素 a/叶绿素 b
0	1.34±0.09a	0.51±0.08a	1.85±0.02a	0.23±0.06a	2.70±0.58b
0.5	1.20±0.05abc	0.44±0.02ab	1.64±0.06ab	0.21±0.01a	2.72±0.17b
1	1.04±0.05bc	0.43±0.40ab	1.47±0.05bc	0.20±0.02a	2.44±0.32b
2	1.25±0.23ab	0.44±0.07ab	1.69±0.25ab	0.22±0.02a	2.92±0.73b
4	1.17±0.20abc	0.35±0.14bc	1.52±0.34b	0.21±0.01a	3.65±0.56ab
8	0.96±0.05c	0.23±0.02c	1.18±0.35c	0.20±0.01a	4.28±0.65a

表 3 Mn 对短毛蓼叶片中抗氧化酶活性及 H₂O₂、MDA 含量的影响

Table 3 Effects of Mn on antioxidant enzyme activities and the contents of H₂O₂ and MDA in the leaves of *P. pubescens*

Mn 浓度/mmol·L ⁻¹	SOD 活性/U·g ⁻¹	POD 活性/U·g ⁻¹ ·min ⁻¹	CAT 活性/U·g ⁻¹ ·min ⁻¹	APX 活性/U·g ⁻¹ ·min ⁻¹	MDA/μmol·kg ⁻¹	H ₂ O ₂ /μmol·kg ⁻¹
0	326.56±4.66e	1 987.55±61.28e	459.45±18.35b	232.85±8.04d	2.20±0.03e	6.39±0.23d
0.5	395.90±3.58d	2 516.28±268.07d	328.14±10.11e	322.98±9.57c	3.50±0.18d	5.64±0.44d
1	401.59±2.68d	3 008.85±105.20c	390.67±6.33d	362.66±6.30b	3.91±0.05cd	5.87±0.36d
2	434.64±6.82c	3 749.85±125.36a	628.77±16.10a	405.07±12.03a	4.48±0.26c	8.82±0.55c
4	456.60±9.40b	3 304.38±33.02b	438.48±6.02c	327.91±13.60c	6.25±0.25b	10.94±0.74b
8	484.86±3.46a	2 318.80±99.35d	334.12±6.42e	235.53±12.92d	11.13±0.97a	12.37±0.36a

性随 Mn 处理浓度的增加呈现先上升后下降的趋势，在 Mn 处理浓度为 $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时，POD、APX、CAT 活性均达到最高值，且与对照间差异显著 ($P < 0.05$)。在 Mn 处理浓度为 $0.5, 1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时，短毛蓼叶片中 H_2O_2 的含量与对照无显著差异 ($P > 0.05$)，而当 Mn 处理浓度 $\geq 2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时， H_2O_2 的含量呈明显上升趋势，且与对照间差异显著 ($P < 0.05$)，在 Mn 处理浓度为 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时， H_2O_2 的含量为对照的 1.94 倍，表明抗氧化酶 SOD、POD、CAT 和 APX 活性的升高有助于清除短毛蓼叶片中的活性氧物质。MDA 含量的变化趋势与 SOD 活性变化趋势相似。

2.4 Mn 对短毛蓼叶片-SH、GSH、PCs 含量的影响

从表 4 可以看出，短毛蓼叶片中-SH、GSH 含量随着 Mn 处理浓度的增加而增加，在 Mn 处理浓度为 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时，短毛蓼叶片中-SH、GSH 的含量分别为对照的 1.11 倍和 1.20 倍，表明-SH、GSH 在缓解 Mn 对短毛蓼的毒害过程中起着重要的作用。但 Mn 处理对 PCs 的含量无显著影响。

3 讨论

植物的生物量下降是植物受重金属毒害的响应指标之一。本研究结果表明，当 Mn 处理浓度 $\geq 2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时，短毛蓼的株高、株重和根长呈现显著下降的趋势 ($P < 0.05$)，表明短毛蓼的生长受到 Mn 的抑制。这可能是重金属和植物体内的一系列代谢过程（蛋白质合成、酶活性、亚细胞结构等）相互影响的结果^[18]。 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Mn 处理使短毛蓼叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a+b 的含量整体呈现下降趋势，但类胡萝卜素含量与对照间差异不显著 ($P > 0.05$)。有研究表明^[19]，在 Mn 胁迫下龙葵和小飞蓬的光合作用电子传递过程和传递速率都受到抑制，叶绿素含量明显下降。同理， $\geq 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cu^{2+} 抑制了芥菜叶绿素的合成，光能转化效率显著降低^[20]。

Mn 胁迫将导致植物产生 ROS，从而影响植物的

生理和生化过程，加剧植物细胞的脂质过氧化程度、破坏细胞膜、使蛋白质变性、DNA 突变^[1]。在 Mn 处理浓度为 $4, 8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时，短毛蓼叶片 MDA 含量呈现显著上升趋势 ($P < 0.05$)，表明 $4, 8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Mn 胁迫加剧了短毛蓼的脂质过氧化水平。在对 Cu 胁迫下的红白菜幼苗的研究中也发现高浓度的 Cu 引起了红白菜幼苗细胞产生大量的 ROS，使细胞膜受到损伤，从而导致红白菜幼苗脂质过氧化水平的加剧，最终引起植物细胞的死亡^[21]。当 Mn 处理浓度在 $2 \sim 8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时，短毛蓼叶片中 H_2O_2 的含量呈现显著上升趋势 ($P < 0.05$)，这可能和植物体中抗氧化酶受到抑制有关。

植物在受到重金属胁迫的过程中，抗氧化酶在保护植物免受 ROS 损害的过程中起着重要作用^[22]。SOD 可以使 O_2^- 转化为 O_2 和 H_2O_2 ，并进一步转化为 H_2O 和 O_2 ，在 Mn 胁迫下，短毛蓼叶片中 SOD 活性呈上升趋势，这与 Liu 等^[23]对 As 胁迫下 4 种凤尾蕨属植物中 SOD 活性随土壤中 As 含量的增加而增强的研究结果一致。POD、CAT 和 APX 是清除植物体中 H_2O_2 的重要的酶。短毛蓼叶片中 POD、CAT 和 APX 的活性呈现先上升后下降的趋势，这可能是因为在 Mn 处理浓度 $\leq 2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时，短毛蓼为了抵御活性氧胁迫而产生的应激反应。 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Mn 抑制了 POD、CAT 和 APX 的活性，同时伴随着 H_2O_2 含量的增加，表明在高浓度的 Mn 胁迫下，短毛蓼叶片中大量累积的活性氧已经超出了 POD、CAT 和 APX 的调节能力，从而导致 POD、CAT 和 APX 活性下降。这与经过 Cr^{6+} 处理的辣椒幼苗叶片中抗氧化酶活性变化相似^[24]。此外，这一结果和 Cd 对超富集植物圆锥南芥中 POD、CAT 和 APX 变化趋势也相似^[16]。

GSH 是植物螯合态 PCs 的前体，在控制植物的抗氧化系统和保持植物体活性氧的平衡过程中起着非常重要的作用^[25]。短毛蓼叶片中 GSH、-SH 活性呈增强趋势的结果与很多的研究结果相似^[16, 25]，这可能

表 4 Mn 对短毛蓼叶片中-SH、GSH、PCs 含量的影响

Table 4 Effects of Mn on the contents of -SH, GSH, PCs in the leaves of *P. pubescens*

Mn 浓度/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	-SH/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$	GSH/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$	PCs/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$
0	0.47 \pm 0.03b	0.25 \pm 0.03ab	0.22 \pm 0.05a
0.5	0.43 \pm 0.02c	0.21 \pm 0.03b	0.22 \pm 0.02a
1	0.48 \pm 0.02b	0.24 \pm 0.04ab	0.24 \pm 0.02a
2	0.49 \pm 0.02ab	0.28 \pm 0.06a	0.21 \pm 0.04a
4	0.51 \pm 0.01ab	0.29 \pm 0.01a	0.22 \pm 0.02a
8	0.52 \pm 0.01a	0.30 \pm 0.01a	0.22 \pm 0.01a

是由于与 GSH 相关的酶受到 Mn 的诱导而引起的。但与 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cd 处理下太阳花的叶片中 GSH 含量减少的研究结果相反^[26]。本研究结果表明, 在短毛蓼叶片中 PCs 的含量变化与对照间无显著性差异 ($P>0.05$), 表明 PCs 在短毛蓼叶片缓解 Mn 毒的过程中起的作用较小, 这一现象和对 As 超富集植物蜈蚣草的研究相似^[27], 但与很多植物中重金属胁迫启动了 PCs 合成机制存在矛盾的地方, 究竟是何原因还有待进一步研究。

4 结论

(1) Mn 处理影响了短毛蓼的生长和叶绿素含量, Mn 处理浓度低于 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 对短毛蓼生物量的影响不显著 ($P>0.05$); $2\sim8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Mn 处理显著降低了短毛蓼的株高、株重和根长 ($P<0.05$); $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Mn 处理显著降低了短毛蓼叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a+b 含量 ($P<0.05$), 但对类胡萝卜素含量的影响不显著 ($P>0.05$)。

(2) 短毛蓼根、茎、叶中 Mn 含量随着 Mn 处理浓度的增加而显著增加 ($P<0.05$), 且 Mn 的含量为叶>茎>根; Mn 累积引起了短毛蓼叶片中 MDA 和 H_2O_2 含量的增加。

(3) Mn 处理引起了短毛蓼抗氧化酶系统的变化, 显著提高了短毛蓼叶片中 SOD 活性 ($P<0.05$), 使得 POD 和 APX 活性呈现先上升后下降的变化趋势。同时启动了短毛蓼的解毒机制, 增加了-SH、GSH 含量, 但对 PCs 的含量无显著影响。在 Mn 处理浓度为 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 短毛蓼叶片中-SH、GSH 的含量比对照分别提高了 10.6% 和 20%。

参考文献:

- [1] Shi Q H, Zhu Z J, Xu M, et al. Effects of excess manganese on the antioxidant system in *Cucumis sativus* L. under two light intensities [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2006, 58: 197–205.
- [2] Fu J, Huang B. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2001, 45: 105–114.
- [3] Wang C, Zhang S H, Wang P F, et al. The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed seedlings [J]. *Chemosphere*, 2009, 75: 1468–1476.
- [4] 汤叶涛, 关丽捷, 仇荣亮, 等. 镉对超富集植物滇苦菜抗氧化系统的影响 [J]. 生态学报, 2010, 30(2): 324–332.
TANG Ye-tao, GUAN Li-jie, QIU Rong-liang, et al. Antioxidative defense to cadmium in hyperaccumulator *Picris divaricata* V.[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(2): 324–332.
- [5] 谢 飞, 王宏镔, 王海娟, 等. 砷胁迫对不同砷富集能力植物叶片抗氧化酶活性的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(7): 1379–1385.
XIE Fei, WANG Hong-bin, WANG Hai-juan, et al. Effects of arsenic stress on activities of antioxidant enzymes in the fronds of plants with different abilities to accumulate arsenic[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(7): 1379–1385.
- [6] 孙守琴, 何 明, 曹 同, 等. Pb、Ni 胁迫对大羽藓抗氧化酶系统的影响 [J]. 应用生态学报, 2009, 20(4): 937–942.
SUN Shou-qin, HE Ming, CAO Tong, et al. Effects of Pb and Ni stress on antioxidant enzyme system of *Thuidium cymbifolium*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(4): 937–942.
- [7] 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.
- [8] 邓 华, 李明顺, 陈英旭, 等. 短毛蓼对 Cd 的富集特征研究 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(10): 5284–5286.
DENG Hua, LI Ming-shun, CHEN Ying-xu, et al. Accumulation characteristics of Cd in *Polygonum pubescens* Blume[J]. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2010, 38(10): 5284–5286.
- [9] 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.
- [10] 陈燕珍, 陶毅明, 梁振鑫, 等. 锰胁迫对商陆(*Phytolacca acinosa*)保护酶的影响 [J]. 生物学杂志, 2008, 25(3): 44–47.
CHEN Yan-zhen, TAO Yi-ming, LIANG Zhen-xin, et al. Effects of protective enzymes of *Phytolacca acinosa* under manganese stress [J]. *Journal of Biology*, 2008, 25(3): 44–47.
- [11] Mishra S, Srivastava S, Tripathi R D, et al. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L.[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2006, 44: 25–37.
- [12] 李合生, 孙 群, 赵世杰. 植物生理生化试验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
LI He-sheng, SUN Qun, ZHAO Shi-jie. Theory and technique of plant physiological and biochemical experiments [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.
- [13] Cao X, Ma Q L, Tu C. Antioxidative responses to arsenic in the arsenic hyperaccumulator chinese brake fern(*Pteris vittata* L.) [J]. *Environmental Pollution*, 2004, 128: 317–325.
- [14] 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.
Shanghai Institute of Plant Physiology. Chinese Academy Science, Experimental guidebook of modern plant physiology [M]. Beijing: Science Press, 1999.
- [15] 邹 琦. 植物生理学实验指导 [M]. 中国农业出版社, 2008.
ZOU Qi. Experimental guidebook of plant physiology [M]. Beijing:

- China Agriculture Press, 2008.
- [16] 于方明, 汤叶涛, 仇荣亮, 等. Cd 胁迫下超富集植物圆锥南芥抗氧化机理[J]. 环境科学学报, 2010, 30(2):409–414.
YU Fang-ming, TANG Ye-tao, QIU Rong-liang, et al. Antioxidative responses to cadmium stress in the hyperaccumulator *Arabis paniculata* Franch[M]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2010, 30(2):409–414.
- [17] 任立民, 刘 鹏, 蔡妙珍, 等. 水蓼、小飞蓬、杠板归和美洲商陆对锰毒的生理响应[J]. 水土保持学报, 2007, 21(3):81–85.
REN Li-min, LIU Peng, CAI Miao-zheng, et al. Physiological response of *Polygonum hydropiper*, *Conyza canadensis*, *Polygonum perfoliatum* and *Phytolacca americana* to manganese toxicity[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2007, 21(3):81–85.
- [18] Najeeb U, Xu L, Ali S, et al. Citric acid enhances the phytoextraction of manganese and plant growth by alleviating the ultrastructural damages in *Juncus effusus* L.[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 170: 1156–1163.
- [19] 吴惠芳, 刘 鹏, 龚春风, 等. Mn 胁迫对龙葵和小飞蓬生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(4):653–658.
WU Hui-fang, LIU Peng, GONG Chun-feng, et al. Effects of manganese stress on growth, chlorophyll fluorescence parameters of *Solanum nigrum* L. and *Conyza Canadensis* L.[M]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(4):653–658.
- [20] 李 红, 冯永忠, 杨改河, 等. 铜胁迫对芥菜光合特性及叶绿素荧光参数的影响[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(8):1630–1635.
LI Hong, FENG Yong-zhong, YANG Gai-he, et al. Effects of copper stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence parameters of Chinese Mustard[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(8): 1630–1635.
- [21] Posmyk M M, Kontek R, Janas K M. Antioxidant enzymes activity and phenolic compounds content in red cabbage seedlings exposed to copper stress[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2009, 72:596–602.
- [22] Shamsi I H, Jilani G, Zhang G P, et al. Cadmium stress tolerance through potassium nutrition in soybean[J]. *Asian Journal of Chemistry*, 2008, 20:1099–1108.
- [23] Liu Y, Wang H B, Wong M H, et al. The role of arsenate reductase and superoxide dismutase in As accumulation in four *Pteris* species[J]. *Environment International*, 2009, 35:491–195.
- [24] 郑爱珍. 重金属 Cr⁶⁺污染对辣椒幼苗生理生化特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(4):1343–1346.
ZHENG Ai-zhen. Effects of heavy metal Cr⁶⁺ pollution on physiological and biochemical characteristics of pepper (*Capsicum Annum* L.) seedlings[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(4):1343–1346.
- [25] Seth C S, Chaturvedi P K, Misra V. The role of phytochelatins and antioxidants in tolerance to Cd accumulation in *Brassica juncea* L.[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2008, 71(1):76–85.
- [26] Gallego S M, Benavides M P, Tomaro M L. Effect of cadmium ions on antioxidant defense system in sunflower cotyledons[J]. *Biological Plant*, 1999, 42(1):49–55.
- [27] Zhao F J, Wang J R, Barker J H A, et al. The role of phytochelatins in arsenic tolerance in the hyperaccumulator *Pteris vittata*[J]. *New Phytologist*, 2003, 159:403–410.