

烯效唑对沉水植物伊乐藻 (*Elodea nuttallii*) 生长及抗氧化酶活性的影响

潘慧云, 李小路, 徐小花, 高士祥*

(污染控制和资源化研究国家重点实验室, 南京大学环境学院, 南京 210093)

摘要:研究了烯效唑对沉水植物伊乐藻生长及抗氧化酶活性的影响。结果表明, 烯效唑可以刺激伊乐藻新芽萌发, 新生枝条节间距离减小, 叶片紧密, 同时烯效唑对成熟枝条的生长具有明显的抑制作用。低浓度 ($\leq 1.0 \text{ mg/L}$)、短时间的烯效唑暴露可促进叶绿素 a 含量的增加, 随着暴露时间的延长, 处理组叶绿素 a 含量降低, 叶绿素 b 含量显著增加。烯效唑胁迫下, 伊乐藻体内 3 种抗氧化酶反应灵敏, SOD 活性受到显著诱导, CAT 活性先升高后降低, POD 活性先升高后降低后又升高。说明烯效唑可对植物产生氧化胁迫, 诱导抗氧化酶活性升高, 当胁迫超过一定强度时, 活性氧不能及时清除, 对植物体产生氧化损伤。

关键词:烯效唑; 伊乐藻; 氧化胁迫; 氧化损伤

文章编号: 1000-0933(2008)12-6159-06 中图分类号: X171 文献标识码: A

Effects of uniconazole on the growth and activities of anti-oxidation enzymes of *Elodea nuttallii*

PAN Hui-Yun, LI Xiao-Lu, XU Xiao-Hua, GAO Shi-Xiang*

State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(12): 6159 ~ 6164.

Abstract: Effects of uniconazole on the growth and activities of anti-oxidation enzymes of *Elodea nuttallii* were studied. The results showed that uniconazole could stimulate the sprout bourgeoning but restrain the growth of frond remarkably. The internode length of the new branches was smaller and leaves grew closely. Low concentrations of uniconazole increased the content of chlorophyll a at the beginning of the exposure, and, at longer exposure time, chlorophyll a content decreased, but chlorophyll b content increased greatly. Anti-oxidation enzymes of *Elodea nuttallii* were sensitive to the exposure of uniconazole. The activities of SOD (superoxide dismutase) were greatly induced, and the activities of CAT (catalase) increased first and then decreased. The activities of POD (peroxidase) increased at the beginning, then decreased, and then increased again. The results revealed that uniconazole could result in oxidative stress to *Elodea nuttallii*, and induce elevated activities of anti-oxidation enzymes. When stress intensity exceeded a certain value, reactive oxygen species could not be removed in time and would result in oxidative damages to the plant.

Key Words: uniconazole; *Elodea nuttallii*; oxidative damage; oxidative damage

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)资助项目(2002CB412307)

收稿日期: 2007-07-14; 修订日期: 2008-03-25

作者简介: 潘慧云(1978~), 女, 河南焦作人, 博士生, 主要从事污染水体的生态修复研究. E-mail: pian_321@126.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: ecsxg@nju.edu.cn

Foundation item: The project was financially supported by National "973" Project of China(No. 2002CB412307)

Received date: 2007-07-14; **Accepted date:** 2008-03-25

Biography: PAN Hui-Yun, Ph. D. candidate, mainly engaged in ecological restoration of polluted water. E-mail: pian_321@126.com

为了提高农林业的生产效率,农药的生产和使用量日益增加,但是约 90% 的农药会通过空气、土壤和水扩散到周围环境^[1],最终各类生境中的农药汇集到水体中对水生生态系统产生影响,尤其对比较脆弱的湖泊生态系统的影响值得研究和关注^[2]。

沉水植物是水生生态系统的初级生产者,对维持水生生态系统的平衡和稳定起着重要的作用^[3,4]。由于湖泊富营养化的不断加剧和对湖泊资源的过度开发,沉水植物退化的现象已十分普遍^[5]。生物环境和非生物环境都可能对沉水植物的生长形成胁迫^[6,7]。研究表明,大型水生植物对除草剂更为敏感,即使低浓度条件下,也会对植物生长产生影响^[8,9]。深入研究农药对沉水植物生长的影响及其作用机理,对于揭示沉水植物衰退的原因,正确评价农药的生态风险具有十分重要的意义。

烯效唑是一种新型的植物生长调节剂,具有延缓植物伸长生长,促进分蘖,提高抗逆性和光合作用,增加干物质积累等作用,广泛应用于作物、果树、观赏植物等的生长调节^[10,11]。烯效唑进入水体后对水生植物的影响尚未见报道,本文以常见沉水植物伊乐藻为作用对象,研究烯效唑对伊乐藻的生理生态效应。

1 材料与方法

1.1 供试药品及材料

供试药品:98.5% 烯效唑原药,由南京利民有限公司提供。

伊乐藻采自太湖,在铺有底泥的水缸中培养备用。预培养 2 周后,选择一定量生长良好,生长状况一致的植物个体于 2L 烧杯中进行实验,施药前适应性培养 3d。

1.2 实验设计及样品采集

实验共设 4 个处理浓度,分别为:0.1、1.0、4.0、8.0 mg/L,并设空白对照组,各组设两个平行。实验室自然光照条件下培养,实验期间水温为 13~21℃,定期补充水和营养液,分别在实验初始及第 6 天、12 天、18 天采样。

分别在各组采集植物茎叶混和样品约 0.2g,准确称重后用液氮冷冻,置于冰箱中保存待测。混合样品用于生理生化指标的测定,实验结束后,将各处理组植物取出称量鲜重。

1.3 实验方法

参照《植物生理生化实验原理和技术》^[12]测定植物体叶绿素含量,过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)及超氧化物歧化酶(SOD)活性。

1.4 数据处理和统计分析

实验结果取各组测定结果的平均值,并用 SPSS13.0 对组间数据进行 *t* 检验, $P < 0.05$ 表明差异显著, $P < 0.01$ 表明差异极显著。

2 结果与分析

2.1 伊乐藻的生长状况

实验过程中伊乐藻的生长状况通过实验结束时称量伊乐藻鲜重和植物体萌发的新芽数进行评价,各组伊乐藻生物量变化及新芽萌发数见表 1。烯效唑暴露对伊乐藻的生长状况和形态产生了明显影响,显著抑制了伊乐藻的生长,实验结束时各处理组伊乐藻鲜重基本无增加,相对增长率的变化与施药浓度没有明显的相关性。处理组伊乐藻的新芽萌发个数显著增加,新芽数均为对照组的两倍以上。该结果表明,烯效唑可以刺激伊乐藻新芽的萌发,但是对成熟枝条的生长具有明显的抑制作用。处理组新芽萌发数明显多于对照组,且新萌发的分枝生长速度较对照快,节间距小,叶紧密,呈簇状,而老的枝条慢慢枯黄死亡。

2.2 不同浓度烯效唑对伊乐藻光合色素含量的影响

植物生长涉及光合作用、呼吸作用、细胞分裂等多个过程,其中任一环节受到破坏都会影响植物的生长。光合色素是在光合作用中参与吸收、传递光能或引起原初光化学反应的色素。高等植物的光合色素是叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素。

经不同浓度烯效唑处理后,伊乐藻体内各光合色素含量见表 2。低浓度(≤ 1.0 mg/L)烯效唑在实验初期

促进了叶绿素的合成,第6天时,1.0 mg/L 组伊乐藻体内叶绿素 a 及叶绿素含量增加最多,较初始时分别增加 43.6% 和 51.8%。高浓度(8.0mg/L)烯效唑则在实验开始时就抑制了叶绿素含量的增加,叶绿素 a 和叶绿素 b 分别为对照组的 69.2% 和 66.7%。随处理时间的延长,对照组伊乐藻体内叶绿素含量开始增加,各处理组伊乐藻中叶绿素含量增加减缓或略有下降,且处理组伊乐藻中叶绿素 b 的含量显著增加。

表 1 烯效唑对伊乐藻生长状况的影响

Table 1 Effects of uniconazole on the growth of *Elodea nuttallii*

烯效唑浓度 Content of uniconazole(mg/L)	鲜重 Fresh weight(g)		相对增长率 Relative growth rate(%)	新芽数 Sprout numbers(个)
	初始 Initial	结束 End		
CK	4.98	7.89	58.4	6
0.1	4.47	4.58	2.5	15
1.0	5.53	5.52	0.0	20
4.0	4.66	5.06	8.6	13
8.0	4.82	4.76	-1.2	12

表 2 烯效唑对伊乐藻光合色素含量的影响

Table 2 Effect of uniconazole on photosynthetic pigments content of *Elodea nuttallii*

时间 Time(d)	烯效唑浓度 Content of uniconazole (mg/L)	Chl. a (mg/g)	Chl. b (mg/g)	Chl(Total) (mg/g)	Car (mg/g)	a/b	Car/Chl
0	CK	0.41	0.16	0.57	0.08	2.58	0.14
	0.1	0.41	0.16	0.57	0.08	2.58	0.14
	1.0	0.41	0.16	0.57	0.08	2.58	0.14
	4.0	0.41	0.16	0.57	0.08	2.58	0.14
	8.0	0.41	0.16	0.57	0.08	2.58	0.14
6	CK	0.39	0.15	0.54	0.08	2.64	0.15
	0.1	0.49	0.18	0.66	0.13	2.72	0.20
	1.0	0.56	0.26	0.82	0.09	2.15	0.11
	4.0	0.41	0.19	0.61	0.08	2.16	0.13
	8.0	0.27	0.10	0.38	0.06	2.70	0.16
12	CK	0.70	0.23	0.93	0.13	3.04	0.14
	0.1	0.45	0.21	0.66	0.17	2.14	0.30
	1.0	0.64	0.23	0.87	0.17	2.78	0.22
	4.0	0.55	0.20	0.75	0.13	2.75	0.17
	8.0	0.61	0.23	0.84	0.18	2.65	0.21
18	CK	0.85	0.27	1.12	0.05	3.15	0.04
	0.1	0.48	0.32	0.80	0.07	1.50	0.05
	1.0	0.57	0.55	1.12	0.05	1.04	0.04
	4.0	0.55	0.31	0.86	0.08	1.77	0.09
	8.0	0.48	0.74	1.22	0.09	0.65	0.07

实验初期,类胡萝卜素含量变化不明显。第12天时,除4.0mg/L组,各处理组伊乐藻体内光合保护色素-类胡萝卜素含量均显著高于对照($P < 0.05$)。至第18天,各处理组类胡萝卜素含量与对照接近,无显著性差异($P > 0.05$)。

植物体内光合色素是光合作用的物质基础,叶绿素含量的高低在很大程度上反映了植株的生长状况和光合能力。高浓度烯效唑处理使伊乐藻中的叶绿素含量显著低于对照,说明烯效唑在高浓度下抑制了叶绿素的合成。而低浓度处理时,在实验初期刺激了伊乐藻体内叶绿素含量的增加,随着处理时间的延长,各处理组伊乐藻叶绿素的含量逐渐降低。这一现象表明即使在低浓度条件下,长时间的暴露也会影响伊乐藻体内叶绿素

的含量。类胡萝卜素既是光合色素,又是内源抗氧化剂,除在光合作用中具有一定的功能外,在细胞内还可吸收剩余能量,淬灭活性氧,从而防止膜脂过氧化^[13]。各处理组类胡萝卜素含量在实验初期略高于对照,中期则显著高于对照。类胡萝卜素的升高表明植物体对环境胁迫产生了响应,刺激类胡萝卜素的合成以对机体形成保护。Chl. a/Chl. b 值的变化,能反映叶片光合活性的强弱^[14]。由于各处理组伊乐藻中叶绿素 b 含量的显著增加,使得除 0.1mg/L 处理在第 6 天高于对照外,各处理组伊乐藻 Chl. a/Chl. b 均显著低于对照,说明其光合作用受到抑制,叶片老化加快。Car/Chl 值的高低与植物忍受逆境的能力有关^[14]。本实验中,仅第 12 天时,处理组 Car/Chl 高于对照,说明伊乐藻在该时期做出应激,生成更多的类胡萝卜素以形成对机体的保护,但是长时间烯效唑胁迫最终抑制类胡萝卜素的合成,从而降低对植物体的保护,加速了叶绿素的分解,最终降低了植物的光合作用能力。

以上结果表明,烯效唑胁迫可以抑制伊乐藻中 Chl. a 的合成,同时显著促进 Chl. b 增加,减弱了植物的的光合作用能力,促进叶片的老化。一段时间的暴露可以促进 Car 的合成以对植物体形成一定的保护,但之后 Car 含量下降,对机体的保护能力下降,光合作用系统受到伤害。

2.3 不同浓度烯效唑对伊乐藻体内抗氧化酶体系活性的影响

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)是生物体内活性氧清除酶系统的重要保护酶,能有效阻止活性氧的积累,防止膜脂氧化的发生,延缓植物的衰老,使植物维持正常的生长和发育^[15]。图 1、图 2 和图 3 分别为伊乐藻体内 3 种酶的活性变化过程。

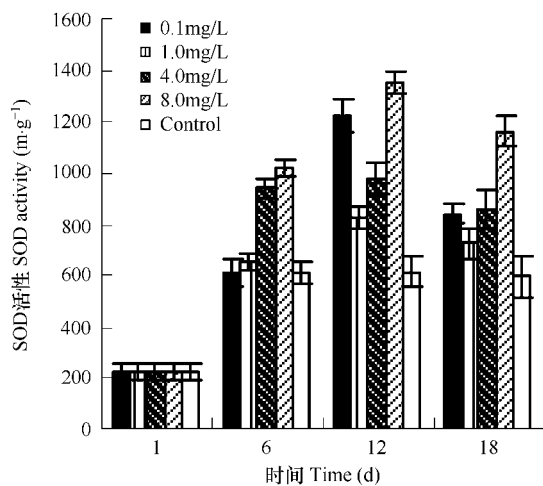


图 1 伊乐藻体内 SOD 活性变化

Fig. 1 Changes of SOD activity of *Elodea nuttallii*

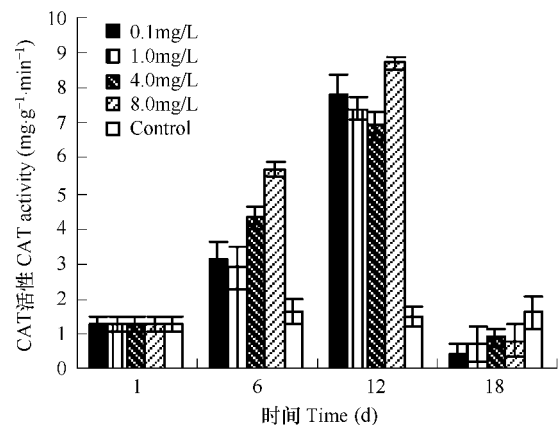


图 2 伊乐藻体内 CAT 活性变化

Fig. 2 Changes of CAT activity of *Elodea nuttallii*

由图 1 可以看到,各处理组伊乐藻体内 SOD 活性均随时间先升高后降低。第 6 天时,较高浓度($\geq 4.0\text{mg/L}$)烯效唑处理显著诱导 SOD 活性($P < 0.01$),而较低浓度烯效唑处理的伊乐藻 SOD 活性仅略高于对照。随着时间延长,各处理组 SOD 活性继续升高,第 12 天时达到最大,18 天时开始降低,但仍显著高于对照($P < 0.05$)。除最低浓度组外,其余各组的 SOD 活性在各测定时间内表现出一定的剂量-效应关系,即浓度越高,SOD 活性也越高。

SOD 是生物体内唯一以自由基为底物的抗氧化酶,可通过歧化反应使 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 生成 H_2O_2 和 O_2 ,从而阻止危害性很大的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 大量生成^[16]。过多的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 生成导致了 SOD 活性的诱导。因此, SOD 被诱导表明污染物引起了伊乐藻体内大量 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的生成。当 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 浓度超过一定值后,其活性增加缓慢,说明该酶系统受到破坏。本实验中,较高浓度的烯效唑($\geq 4.0\text{mg/L}$)处理在第 6 天时即使得伊乐藻的 SOD 活性显著升高而低浓度处理的 SOD 活性没有明显增加,说明高浓度烯效唑对伊乐藻产生了明显的胁迫效应,引起其体内产生大量的活性

氧,而低浓度、短时间的处理对 SOD 诱导不显著,但低浓度、长时间的暴露也会引起活性氧的产生,从而诱导 SOD 活性。第 18 天时,各处理组 SOD 活性均开始下降,说明长时间的暴露会引起活性氧慢慢积累,最终抑制酶活性,对机体产生损伤。

从图 2 可以看出,各处理组 CAT 活性在第 6 和 12 天均极显著升高($P < 0.01$),并在第 12 天时各组 CAT 活性均到达最高。第 18 天时,各处理组伊乐藻体内 CAT 活性迅速降低至对照组水平以下($P < 0.01$)。相同浓度、不同时间处理下,伊乐藻体内 CAT 酶活性先升高后降低。

过氧化氢酶广泛存在于植物体中,是活性较高的一种酶,是酶促防御系统重要保护酶。植物体内高浓度的 H_2O_2 主要靠 CAT 清除,从而使 H_2O_2 控制在较低的水平^[15]。植物在逆境胁迫下,体内生成大量的活性氧,在 SOD 作用下,会有 H_2O_2 生成,CAT 活性将被显著诱导。本实验中,CAT 活性与 SOD 活性变化十分一致,在实验中期,酶活性均被显著诱导,实验后期酶活性下降,说明植物体在受到烯效唑胁迫时,首先产生应激反应,在长时间胁迫下,机体受到了损伤。

由图 3 可知,除 4.0mg/L 外,烯效唑处理在第 6 天显著诱导伊乐藻体内 POD 活性($P < 0.05$)。第 12 天时,仅 4.0mg/L 组 POD 活性高于对照,POD 活性为 $48.1 \Delta A \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$ 。第 18 天时,各处理组 POD 活性又有所升高,最高浓度组 POD 活性最高,为 $69.9 \Delta A \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$ 。

过氧化物酶是植物体内普遍存在的、活性较高的一种酶,其与呼吸作用、光合作用及生长素的氧化等都有密切关系,其活性可以反映某一时期植物体内代谢的变化。正常情况下,植物体内 POD 活性维持一定水平,以去除不断产生的活性氧,使植物体内 POD 活性和活性氧含量达成一定平衡关系^[15]。POD 活性在第 6 天被诱导,说明伊乐藻体内活性氧增加,引起植物体在酶学水平上的反应。而随着富集量的增加,产生的活性氧越来越多,攻击生物大分子,植物组织细胞损伤严重,POD 的活性也相应降低。同时很多研究认为 POD 具有双重

性能,一方面为保护效应,一方面参与叶绿素的降解和活性氧的产生,在逆境后期或衰老后期被启动,表现为伤害效应,是植物衰老到一定阶段的产物,可作为植物衰老的指标^[16]。本实验中,POD 活性的最终下降可能说明烯效唑对植物体形成了伤害,是植物体衰老的一种现象。

综上所述,烯效唑显著诱导活性氧清除系统的 SOD、CAT 和 POD。SOD 活性的诱导说明植物体中产生了大量的氧自由基,鉴于 CAT 在高 H_2O_2 浓度情况下能发挥高效作用的特征,此时 CAT 活性也相应受到显著诱导。POD 活性在受到诱导后又降低,说明植物体受到损伤,其后期的升高,很可能是植物衰老的表现。从几种酶活性在短时间暴露时表现为氧化应激,较长时间暴露时表现为氧化胁迫的现象看,产生氧化胁迫很可能是烯效唑污染对伊乐藻产生损伤的重要途径之一。而伊乐藻体内叶绿素含量及其相对生长速率的降低是其受到损伤的外部表现。

3 结论

烯效唑可以显著刺激伊乐藻新芽的萌发,抑制新芽的伸长生长,矮化植株,并对成熟枝条的生长具有明显的抑制作用。低浓度烯效唑在实验初期促进叶绿素含量的增加,随着时间的延长,最终抑制叶绿素 a 的合成,促进叶绿素 b 含量的增加。光合保护色素-类胡萝卜素含量在实验中期明显增加,后期逐渐下降。烯效唑胁迫对伊乐藻的光合作用系统产生了一定的影响。

伊乐藻体内的 3 种抗氧化酶可以对烯效唑胁迫作出敏感的反应。SOD 和 CAT 活性先升高后降低,而

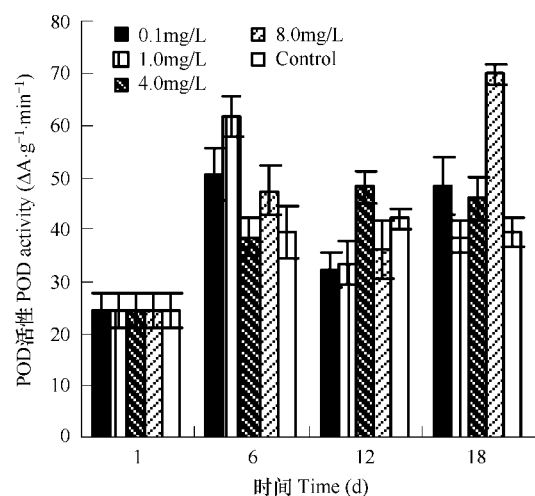


图 3 伊乐藻体内 POD 活性变化

Fig. 3 Changes of POD activity of *Elodea nuttallii*

POD 活性变化表现出一定波动。说明烯效唑胁迫可以引起植物体内活性氧的产生和积累,诱导抗氧化酶活性升高,但当胁迫超过一定强度时,植物体不能及时清除氧自由基,最终酶活性降低,植物机体受到氧化损伤。POD 活性在后期的升高也说明植物体受到伤害,加速了老化过程。

References:

- [1] Moses M, Johnson E, Anger K W, *et al.* Environmental equity and pesticide exposure. *Toxicol. Ind. Health*, 1993, (9): 913—959.
- [2] Brink P J, Hartgers E M, Fettweis U, *et al.* Sensitivity of macrophyte dominated freshwater microcosms to chronic levels of the herbicide linuron I. Primary producers. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1997, 38 (1): 13—24.
- [3] Horppila J, Nurminen L. Effects of submerged macrophytes on sediment resuspension and internal phosphorus loading in Lake Hiidenvesi (southern Finland). *Water Research*, 2003, (37): 4468—4474.
- [4] MA K, CAI Q H, XIE Z C, *et al.* Nitrogen and phosphorous factors of water environment in lakes. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, 27(3): 232—237.
- [5] Gu X H, Zhang S Z, Bai X L, *et al.* Evolution of community structure of aquatic macrophytes in East Taihu Lake and its wetlands. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(7): 1541—1548.
- [6] Brönmark C, Weisner S E B. Indirect effect of fish community structure on submerged vegetation in shallow, eutrophic lakes an alternative mechanism. *Hydrobiologia*, 1992, (243/244): 293—301.
- [7] Irfanullah H M, Moss B. Factors influencing the return of submerged plants to a clear-water, shallow temperate lake. *Aquatic Botany*, 2004, (80): 177—191.
- [8] Davies J, Honegger J L, Tencalla F G, *et al.* Herbicide risk assessment for non-target aquatic plants: sulfosulfuron — a case study. *Pest Manag Sci*, 2003, (59): 231—237.
- [9] Cunningham J J, Kemp W M, Lewis M R, *et al.* Temporal responses of the macrophyte, *Potamogeton perfoliatus* L., and its associated autotrophic community to atrazine exposure in estuarine microcosms. *Estuaries*, 1984, 7(4B): 519—530.
- [10] Zhu M L, He J M. The physiological reaction and effect of uniconazole on crops. *Crop Research*, 1999, (2): 40—43.
- [11] Xu Z S, Wang S X, Xiao B L, *et al.* Action principle and application effect of uniconazole. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2000, 28(3): 339—341.
- [12] Li H S. *Plant physiology biochemistry experimental principle and technology*. Beijing: Higher Education Press, 2000.
- [13] Willekens H, Van Camp W, Van Montagu M, *et al.* Ozone, sulfur dioxide, and ultraviolet B have similar effects on mRNA accumulation of antioxidant genes in *Nicotiana plumbaginifolia* L.. *Plant Physiol.*, 1994, (106): 1007—1014.
- [14] He J, Xu X, Li S H, *et al.* Effects of water stress on photosynthetic pigment in leaves and chlorophyll fluorescence of *Cynanchum komarovii*. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.*, 2004, 24(9): 1594—1598.
- [15] Yang S S, Gao J F. Influence of active oxygen and free radicals on plant senescence. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.*, 2001, 21(2): 215—220.
- [16] Liu A R, Zheng Y B, Chen D K. Effects of salt stress on the growth and the antioxidant enzyme activity of *Thellungiella halophila*. *Bulletin of Botanical Research*, 2006, 3(2): 216—221.

参考文献:

- [4] 马凯,蔡庆华,谢志才,等. 沉水植物分布格局对湖泊水环境 N、P 因子影响. *水生生物学报*, 2003, 27(3): 232~237.
- [5] 谷孝鸿,张圣照,白秀玲,等. 东太湖水生植物群落结构的演变及其沼泽化. *生态学报*, 2005, 25(7): 1541~1548.
- [10] 朱木兰,何觉民. 烯效唑对农作物的生理效应及应用效果. *作物研究*, 1999, (2): 40~43.
- [11] 徐自尚,王树勋,肖炳麟,等. 烯效唑的作用机理及应用效果. *安徽农业科学*, 2000, 28(3): 339~341.
- [12] 李合生主编. *植物生理生化实验原理和技术*. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [14] 何军,许兴,李树华,等. 水分胁迫对牛心朴子叶片光合色素及叶绿素荧光的影响. *西北植物学报*, 2004, 24(9): 1594~1598.
- [15] 杨淑慎,高俊凤. 活性氧、自由基与植物的衰老. *西北植物学报*, 2001, 21(2): 215~220.
- [16] 刘爱荣,张远兵,陈登科. 盐胁迫对盐芥(*Thellungiella halophila*)生长和抗氧化酶活性的影响. *植物研究*, 2006, 3(2): 216~221.