

◆植物生理◆

不同浓度锰胁迫对向日葵幼苗叶片生理生化特性的影响^{*}孙菲菲^{1,2},曾小飏³,梁敏玲³,张翠娇³,邱德全³,邹蓉^{1**}

(1. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所,广西桂林 541006;2. 桂林医学院,广西桂林 530000;3. 百色学院农业与食品工程学院,广西百色 533000)

摘要:为研究锰胁迫对向日葵幼苗的影响,以向日葵幼苗为实验材料,通过沙培盆栽法研究不同 Mn^{2+} 浓度胁迫下向日葵生长和生理生化特性的变化。结果显示:随着 Mn^{2+} 浓度的增加,向日葵幼苗叶片中丙二醛(MDA)、可溶性糖(SS)以及游离脯氨酸(Pro)的含量都呈现上升趋势;而幼苗叶片叶绿素、蛋白质(Pr)含量则呈现先升高再下降的趋势。 Mn^{2+} 浓度为 100 mmol/L 时,向日葵幼苗叶片的总叶绿素、叶绿素 a 和叶绿素 b 含量达到峰值,而后随着 Mn^{2+} 浓度的继续增加而显著下降; Mn^{2+} 浓度为 200 mmol/L 时,蛋白质含量最高,之后急剧下降。综上所述,低浓度 Mn^{2+} 对植株有显著的促进生长作用,细胞代谢加快;高浓度 Mn^{2+} 对植株有显著的抑制作用,可导致细胞代谢紊乱,甚至植株死亡。向日葵可以种植在被低浓度重金属污染的土壤中,一方面可以加快土壤净化,另一方面可以促进植株的生长发育。

关键词:锰胁迫 向日葵 幼苗期 生理生化特性 丙二醛 叶绿素

中图分类号:X173 文献标识码:A 文章编号:1002-7378(2021)01-0008-05

DOI:10.13657/j.cnki.gxkxyb.20210429.003

0 引言

锰(Mn)是一种微量营养元素,它广泛参与植物的多种新陈代谢过程,例如叶绿素形成、光合作用以及酶活性调节等, Mn^{2+} 在这些反应中具有不可替代的作用^[1,2]。锰在土壤中的含量十分丰富,我国各地每公斤土壤中锰的平均含量约 710 mg^[3]。锰主要通过两个途径进入土壤中:人为污染与自然污染。自然污染包括岩石风化、火山爆发以及大气沉降 3 种。人

为污染途径则有很多,包括污水灌溉、污泥使用、固体废物处理不当、矿业工业污染,以及农药和肥料的大量使用等^[4]。据报道,全球每年有大量重金属被人为地投进土壤中,使土壤重金属含量超标,污染严重。锰是重金属,在土壤中很难被降解,且会通过土壤-植物-动物这条食物链在各个生物体内富集^[5]。当植物发生锰中毒时,代表土壤中的锰含量已经超标^[6]。植物一旦发生锰中毒,不仅产量减少,更为严重的是品质下降,且金属锰除了在植物体内不断富集外,还会

^{*} 广西科技重大专项(桂科 AA19254007-4),河池市科技攻关项目(河科 AB198807),广西植物功能物质研究与利用重点实验室主任基金项目(ZRJJ2018-9,ZRJJ2018-10)和广西植物研究所基本业务费项目(桂植业 21002,21012,21013)资助。

【作者简介】

孙菲菲(1996-),女,在读硕士研究生,主要从事药用植物资源开发和检测工作研究。

【**通信作者】

邹蓉(1982-),女,副研究员,主要从事药用植物学和保护生物学研究,E-mail:175183030@qq.com。

【引用本文】

孙菲菲,曾小飏,梁敏玲,等. 不同浓度锰胁迫对向日葵幼苗叶片生理生化特性的影响[J]. 广西科学院学报,2021,37(1):8-12.

SUN F F,ZENG X B,LIANG M L,et al. Effects of Different Concentrations of Manganese Stress on the Biochemical Characteristics of *Helianthus annuus* L. Seedlings [J]. Journal of Guangxi Academy of Sciences,2021,37(1):8-12.

通过食物链进入到人体,导致人体体内锰含量升高,严重的则会导致锰中毒,危害人类的生命安全。因此,研究锰胁迫下的植物生长生理机制以及被重金属污染的土壤修复具有重要意义。

近年来,国内外对土壤重金属污染问题越来越重视,锰对植物的影响研究也纷纷展开,主要集中在生理生化角度,以及探究植物对锰胁迫的响应机制^[7]。李欣航等^[8]研究不同浓度锰胁迫对鸡眼草(*Kummerowia striata*)种子发芽、幼苗生长及幼苗生理生化特性的影响,发现随着锰浓度的升高,鸡眼草种子的发芽率呈逐渐降低趋势,幼苗生长则呈现“低促高抑”现象。曹婧等^[9]研究发现,随着 Mn^{2+} 胁迫程度增大,紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)的株高生长速率、地上和地下生物量先升高后下降,苜蓿粗蛋白质含量在 10 mg/L Mn^{2+} 处理下最高,而丙二醛(MDA)含量则呈现上升的趋势。杨红兰等^[10]研究不同 Mn^{2+} 浓度胁迫下降香黄檀(*Dalbergia odorifera* T. Chen)生长和生理特性的变化,发现随着 Mn^{2+} 浓度的增加,降香黄檀植物体中的丙二醛(MDA)含量、过氧化物酶(POD)活性和活性糖含量均呈现先升高后下降的趋势。

向日葵(*Helianthus annuus* L.)是菊科(Compositae)向日葵属(*Helianthus*)一年生草本植物,高1-3 m;有较大的头状花序,花序直径10-30 cm;瘦果倒卵形或长圆形;花期7-9月,果期8-9月^[11]。向日葵的根系较为发达,抗旱耐贫瘠,而且生长周期短,对重金属的吸收较好,可以较为理想地修复土壤,因此,向日葵具有较显著的环境污染治理潜力,值得深入研究^[12-14]。本实验拟探究在不同浓度锰胁迫下,向日葵生理生化指标的变化规律,及其对锰污染的生理生化响应机制,以期为土壤重金属污染治理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验用苗

向日葵幼苗(种子购自百色市种子商店,通过沙培盆栽法培育成幼苗)。

1.1.2 器材

LRH-150-S 恒温水浴锅,上海力辰邦西仪器科技有限公司;电子天平,上海精科天美科学仪器有限公司;制冰机;TGL-16B 台式离心机,珠海黑马医学仪器有限公司;QT-2 漩涡混合仪,上海琪特分析仪

器有限公司;研钵、15 mL 和 1 000 mL 容量瓶、移液枪、玻璃棒、烧杯、721 型分光光度计等。

1.1.3 试剂

氯化锰、硫代巴比妥酸(TBA)、磺基水杨酸、石英砂、冰乙酸、甲苯、考马斯亮蓝 G250、丙酮、碳酸钙、磷酸、三氯乙酸(TCA)、过氧化氢酶。以上试剂皆为分析纯(AR)。

1.2 方法

1.2.1 幼苗的胁迫处理

向日葵种子培养萌发出芽后,精准称量氯化锰,用去离子水配制成 0, 20, 50, 100, 200, 300 mg/L 的 6 种浓度的 Mn^{2+} 胁迫液处理幼苗(其中 0 mg/L 为空白对照组);挑选生长健壮且长势基本一致的幼苗 24 棵,分为 6 组并编号,每组 4 棵向日葵幼苗并用对应的胁迫液浇灌,胁迫一周后剪取向日葵幼苗叶片进行生理生化指标测定,即丙二醛(MDA)、可溶性糖(SS)、游离脯氨酸(Pro)、叶绿素、蛋白质(Pr)含量的测定。

1.2.2 生理生化指标的测定

MDA、SS 的含量测定采用硫代巴比妥酸法^[15];蛋白质(Pr)的含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 法^[16];叶绿素的含量测定采用分光光度计法^[17];Pro 含量测定采用酸性茚三酮法^[18]。

1.2.3 数据统计与分析

所得的试验数据均是 4 次重复试验的平均值,采用 Excel 2010 软件对数据进行统计分析并作图。

2 结果与分析

2.1 锰胁迫对向日葵幼苗叶片中丙二醛(MDA)含量的影响

不同浓度锰胁迫下,向日葵幼苗叶片 MDA 含量的影响结果见图 1。从图 1 可以看出,随着 Mn^{2+} 浓度的增高,向日葵幼苗叶片中 MDA 含量呈现不断上升趋势;开始时,MDA 含量增加不太明显,当 Mn^{2+} 浓度超过 20 mg/L 时,MDA 含量上升速度加快,当 Mn^{2+} 浓度为 20, 50, 100, 200, 300 mg/L 时分别比对照组上升了 2%、11%、30%、44%、57%。这些数据表明,当重金属锰的浓度大于 100 mg/L 时,MDA 含量的增长速度逐渐减缓。

2.2 锰胁迫对向日葵幼苗叶片中蛋白质(Pr)含量的影响

不同浓度锰胁迫下,向日葵幼苗叶片 Pr 含量的影响结果见图 2。由图 2 可见,随着 Mn^{2+} 浓度的不

断升高,向日葵幼苗叶片中 Pr 含量呈现先升高达到峰值后再下降的趋势;当 Mn^{2+} 浓度从 20 mg/L 升高到 200 mg/L,向日葵中 Pr 含量呈现不断升高的趋势,其中 Mn^{2+} 浓度为 20,50,100,200 mg/L 时分别是对照组的 1.04,1.07,1.14,1.17 倍;当 Mn^{2+} 浓度从 200 mg/L 到 300 mg/L,向日葵中 Pr 含量呈现下降趋势,其中 Mn^{2+} 浓度为 300 mg/L 时,向日葵幼苗叶片中 Pr 含量是对照组的 89%,明显降低。

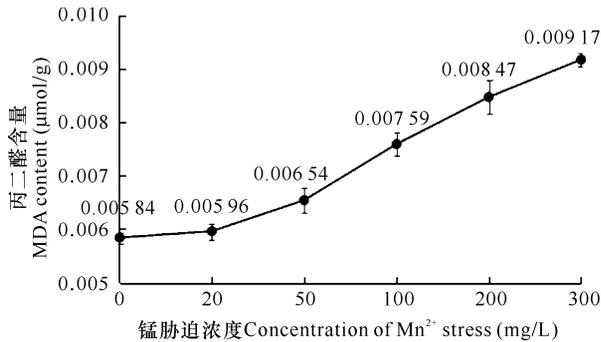


图1 不同浓度 Mn^{2+} 胁迫对向日葵幼苗叶片丙二醛(MDA)含量的影响

Fig. 1 Effect of different concentrations of Mn^{2+} stress on the MDA content in sunflower

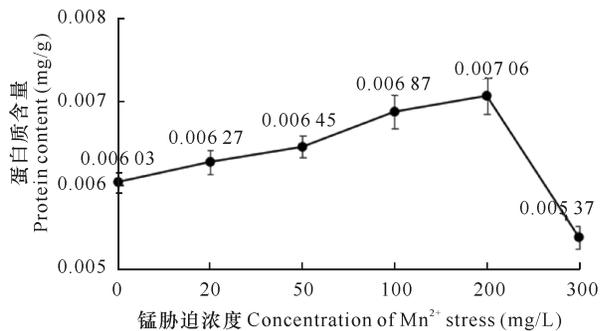


图2 不同浓度 Mn^{2+} 胁迫对向日葵幼苗叶片蛋白质(Pr)含量的影响

Fig. 2 Effect of different concentrations of Mn^{2+} stress on the protein content in sunflower

2.3 锰胁迫对向日葵幼苗叶片叶绿素含量的影响

不同浓度锰胁迫下,向日葵幼苗叶片中叶绿素含量的影响结果见图3。如图3所示,随着锰胁迫浓度的不断升高,向日葵幼苗叶片的总叶绿素含量呈现先升高达到峰值后开始下降的趋势; Mn^{2+} 浓度在 20-100 mg/L 时,总叶绿素含量呈上升趋势;当 Mn^{2+} 浓度在 100-300 mg/L 时,向日葵幼苗叶片中总叶绿素的含量逐渐下降。 Mn^{2+} 浓度为 20,50,100,200,300 mg/L 时,分别是对照组的 1.33,1.47,1.58,1.49,1.41 倍。叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素升降趋势基本一致,都在 Mn^{2+} 浓度为 100 mg/L 时达到

峰值。

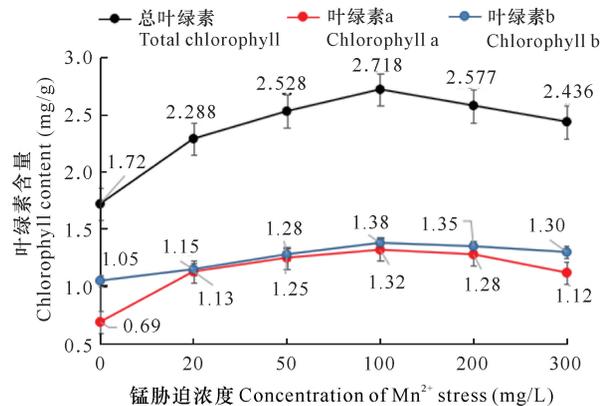


图3 不同浓度 Mn^{2+} 胁迫对向日葵幼苗叶片中总叶绿素、叶绿素 a 和叶绿素 b 含量的影响

Fig. 3 Effect of different concentrations of Mn^{2+} stress on the content of total chlorophyll, chlorophyll a and chlorophyll b in sunflower

2.4 锰胁迫对向日葵幼苗叶片游离脯氨酸(Pro)含量的影响

不同浓度锰胁迫下,向日葵幼苗叶片 Pro 含量的影响结果见图4。从图4可以看出,随着 Mn^{2+} 浓度不断升高,向日葵幼苗叶片 Pro 含量呈现一直上升的趋势,而且当 Mn^{2+} 浓度小于 100 mg/L 时,Pro 含量变化趋势不明显。 Mn^{2+} 浓度为 20,50,100,200,300 mg/L 时,向日葵幼苗叶片 Pro 含量分别是对照组的 1.76,1.82,2.10,3.72,5.74 倍。当 Mn^{2+} 浓度超过 100 mg/L 时,向日葵幼苗叶片 Pro 含量开始急剧上升。

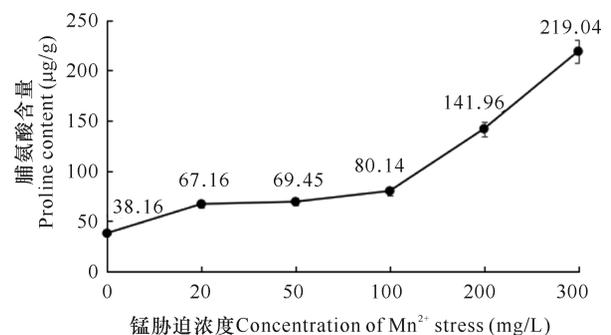


图4 不同浓度 Mn^{2+} 胁迫对向日葵幼苗叶片游离脯氨酸(Pro)含量的影响

Fig. 4 Effect of different concentrations of Mn^{2+} stress on free proline content in sunflower

2.5 锰胁迫对向日葵幼苗叶片可溶性糖(SS)含量的影响

不同浓度锰胁迫下,向日葵幼苗叶片 SS 含量的影响结果见图5。由图5可见,随着 Mn^{2+} 浓度不断升高,向日葵幼苗叶片 SS 含量呈现不断升高的趋

势,且在低浓度时,可溶性糖含量增加趋势是缓慢的。 Mn^{2+} 浓度为20,50,100,200,300 mg/L时,向日葵幼苗叶片SS含量分别比对照组增加了3%、8%、19%、23%、26%。

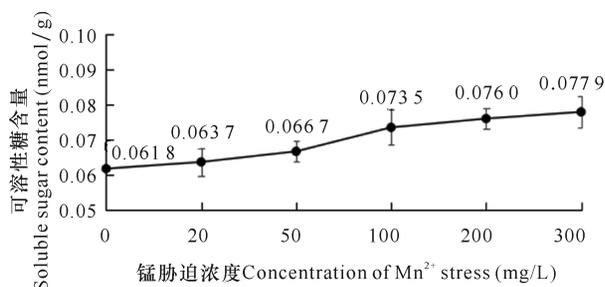


图5 不同浓度 Mn^{2+} 胁迫对向日葵幼苗叶片可溶性糖(SS)含量的影响

Fig. 5 Effect of different concentrations of Mn^{2+} stress on the soluble sugar content in sunflower

3 讨论

3.1 锰胁迫对向日葵幼苗抗氧化活性的影响

当植物不适合在某地生长时,其体内会聚集大量有毒有害物质(例如自由基、活性氧等)时,就会导致其生理代谢紊乱^[19]。植物在不适宜的环境中生长,会生成大量的活性氧(ROS),而这些活性氧会长期存在细胞内,与细胞膜接触发生反应,MDA就是膜脂过氧化反应的产物,而Pro在植物体内具有调节细胞渗透压的作用,并参与调节氧化还原反应^[20],可溶性糖则是作为调节渗透压的一种物质。当植物受到锰胁迫时,活性氧等物质在体内不断积累,使其体内的膜脂发生氧化反应或者脱脂,生成大量的丙二醛、脯氨酸以及可溶性糖,所以MDA、Pro及可溶性糖的增加可以看作是胁迫条件下植物体本身的一种响应机制,起到保护植物体本身的作用^[21]。曹婧等^[9]发现紫花苜蓿中MDA是随着锰胁迫浓度的增加而不断上升,与本研究结果一致。黄开腾等^[22]研究发现随着铝锰复合胁迫浓度的增加,向日葵幼苗叶片的Pro含量总体呈上升趋势,进一步验证了本研究结果的准确性。当植物在逆环境下生长时,这些指标均会升高,它们与植物的抗氧化活性息息相关^[23]。

3.2 锰胁迫对向日葵幼苗光合作用的影响

植物体内的叶绿素含量会直接影响植物光合作用的强弱,从而影响植物的正常生长代谢^[24]。叶绿素的合成与蛋白质的合成之间相互影响;蛋白质合成受抑制导致叶绿素合成缺少所需的酶,阻碍了向日葵幼苗对铁(Fe)和镁(Mg)的吸收;而叶绿素合成受抑

制将导致光合作用减弱,蛋白质合成受到影响。可见,光合作用受到多方面的影响,是叶绿素和蛋白质共同作用的结果。低浓度 Mn^{2+} 可以促进向日葵幼苗体内总叶绿素、叶绿素a、b含量生成,以及蛋白质含量的增加,从而促进向日葵幼苗的生长;但当 Mn^{2+} 浓度超过100 mg/L时,向日葵体内总叶绿素、叶绿素a、b含量生成,以及蛋白质含量开始降低,光合作用受到抑制。

4 结论

向日葵幼苗叶片中丙二醛(MDA)、游离脯氨酸(Pro)以及可溶性糖(SS)的含量都随着锰胁迫浓度的增加呈现上升趋势。而向日葵幼苗叶片叶绿素和蛋白质(Pr)的含量则呈现出随着胁迫浓度升高而先升高再下降的趋势:在 Mn^{2+} 浓度为100 mmol/L时,向日葵幼苗叶片的总叶绿素、叶绿素a和叶绿素b含量达到峰值,之后随着 Mn^{2+} 浓度的继续增加而显著下降;在 Mn^{2+} 浓度为200 mmol/L时,蛋白质含量最高,而后急剧下降。综上所述,低浓度的 Mn^{2+} 对向日葵植株有显著的促进生长作用,细胞代谢加快;高浓度 Mn^{2+} 对向日葵植株有显著的抑制作用,导致细胞代谢紊乱,甚至植株死亡。向日葵可以种植在被重金属低浓度污染的土壤中,一方面可以加快土壤净化,另一方面可以促进植株的生长发育。

参考文献

- [1] 余轲,刘杰,尚伟伟,等.青苜蓿对土壤锰的耐性和富集特征[J].生态学报,2015,35(16):5430-5436.
- [2] 张瑞清,杨剑超,张占田,等.生物炭对酸化土壤锰毒害的缓解效应研究[J].中国农学通报,2018,34(36):110-116.
- [3] 吴名宇,李顺义,张杨珠.土壤锰研究进展与展望[J].作物研究,2005,19(2):137-142.
- [4] 郑海峰.土壤中的锰及其在土壤-蔬菜系统中转移的研究[D].福州:福建农林大学,2010:305-339.
- [5] GOMES-JUNIOR R A, MOLDES C A, DELITE F S, et al. Nickel elicits a fast antioxidant response in *Coffea arabica* cells [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2006, 44(5/6):420-429.
- [6] 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.
- [7] 朱瑞卫,成瑞喜,刘景福,等.土壤酸化与油菜锰毒关系研究[J].热带亚热带土壤科学,1998,7(4):280-283.
- [8] 李欣航,肖泽华,刘文胜.重金属污染区与非污染区鸡眼草幼苗对锰胁迫的生理生化响应[J].北方园艺,2020(14):118-128.
- [9] 曹婧,李向林,万里强.锰胁迫对紫花苜蓿生理和生长特

- 性的影响[J]. 中国草地学报, 2019, 41(6): 15-22.
- [10] 杨红兰, 冯守富, 尹永昌, 等. 锰胁迫对降香黄檀幼苗期生理特性的影响[J]. 南方农业, 2020, 14(27): 149-151.
- [11] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1993.
- [12] 王娟, 李德全. 逆境条件下植物体内渗透调节物质的积累与活性氧代谢[J]. 植物学通报, 2001, 18(4): 459-465.
- [13] 彭立新, 李德全, 束怀瑞. 植物在渗透胁迫下的渗透调节作用[J]. 天津农业科学, 2002, 8(1): 40-43.
- [14] 赵磊, 罗于洋. 我国草本植物中重金属富集、超富集植物筛选研究进展[J]. 内蒙古草业, 2009, 21(1): 43-47.
- [15] 郝再彬, 苍晶, 徐仲. 植物生理实验[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2004: 113-114.
- [16] 曲春香, 沈颂东, 王雪峰, 等. 用考马斯亮蓝测定植物粗提液中可溶性蛋白质含量方法的研究[J]. 苏州大学学报: 自然科学版, 2006, 22(2): 82-85.
- [17] 华东师范大学生物系植物生理教研组. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 人民教育出版社, 1980: 73-76, 88-90.
- [18] 张殿忠, 汪沛洪, 赵会贤. 测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法[J]. 植物生理学通讯, 1990(4): 62-65.
- [19] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J]. 植物生理学通讯, 1992, 27(2): 84-89.
- [20] 向言词, 冯涛, 刘炳荣, 等. 锰尾渣改良对4种植物吸收锰的影响[J]. 水土保持学报, 2007, 21(3): 77-80.
- [21] SMIMOFF N, CUBES Q J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes [J]. Phytochemistry, 1989, 28(4): 1057-1060.
- [22] 黄开腾, 陈勇杏, 黄琳, 等. 铝锰复合胁迫对向日葵幼苗叶片渗透调节物质的影响[J]. 安徽农学通报, 2020, 26(17): 16-18.
- [23] 冷天利, 蒋小军, 杨远祥, 等. 锌铬复合污染对水稻根系可溶性糖代谢的影响[J]. 生态环境, 2007, 16(4): 1088-1091.
- [24] 高大翔, 刘惠芬, 刘卉生, 等. 汞胁迫对小麦种子萌发、幼苗生长及生理生化特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(增刊): 13-16.

Effects of Different Concentrations of Manganese Stress on the Biochemical Characteristics of *Helianthus annuus* L. Seedlings

SUN Feifei^{1,2}, ZENG Xiaobiao³, LIANG Minling³, ZHANG Cuijiao³, QIU Dequan³, ZOU Rong¹

(1. Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin, Guangxi, 541006, China; 2. Guilin Medical College, Guilin, Guangxi, 530000, China; 3. College of Agriculture and Food Engineering, Baise University, Baise, Guangxi, 533000, China)

Abstract: In order to explore the influence of manganese stress on *Helianthus annuus* L. seedlings, *H. annuus* L. seedlings were used as experimental materials to study the growth and physiological and biochemical characteristics of sunflower under different Mn^{2+} concentration stresses by sand culture potting method. The research results showed that with the increase of Mn^{2+} concentration, the content of malondialdehyde (MDA), soluble sugar (SS) and free proline (Pro) in *H. annuus* L. seedling leaves all showed an upward trend. The content of chlorophyll and protein (Pr) in seedling leaves showed a trend of first increasing and then decreasing. When the Mn^{2+} concentration was 100 mmol/L, the total chlorophyll, chlorophyll a and chlorophyll b contents in the leaves of *H. annuus* L. seedlings reached the peak, and then decreased significantly as the Mn^{2+} concentration continued to increase. When Mn^{2+} concentration was 200 mmol/L, the protein content was the highest, and then it decreased sharply. In summary, low concentration of Mn^{2+} can significantly promote plant growth and accelerate cell metabolism. High concentration of Mn^{2+} has a significant inhibitory effect on plants, which can cause cell metabolism disorders and even plant death. *H. annuus* L. can be planted in soil contaminated by low concentrations of heavy metals. On the one hand, it can accelerate soil purification, on the other hand, it can promote the growth and development of plants.

Key words: manganese stress, *Helianthus annuus* L., seeding stage, biochemical characteristics, malondialdehyde, chlorophyll

责任编辑: 陆雁