

锰(Mn)胁迫对紫萍的氧化损伤

张立芳¹, 王敬华¹, 施国新¹, 杨海燕²

(1. 南京师范大学 生命科学院, 江苏省生物多样性与生物技术重点实验室, 江苏 南京 210023;

2. 江苏省中国科学院 植物研究所, 江苏 南京 210023)

摘要:研究了不同浓度 Mn 胁迫(0、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 mmol·L⁻¹)对紫背浮萍的氧化损伤、抗氧化系统以及 Ca²⁺-ATP 酶活性变化的影响,并应用傅里叶变换红外光谱(FTIR)分析了紫萍红外光谱图的变化。结果表明:Mn 胁迫对紫萍造成了明显的氧化损伤,O₂⁻产生速率明显上升、H₂O₂ 和 MDA 大量积累,光合色素、可溶性蛋白质含量下降,可溶性糖含量短暂升高后下降。抗氧化系统遭到了破坏,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性先升高后降低,过氧化物酶(POD)活性逐渐升高,谷胱甘肽(GSH)、维生素 C 及维生素 E 含量明显上升。脯氨酸含量明显上升,Ca²⁺-ATP 酶活性先升高后明显下降。红外光谱图显示,在 3 396、2 920、1 658、1 062 cm⁻¹处峰值均先上升后下降,反映出 Mn 胁迫下紫萍体内氨基酸、糖类、蛋白质、羧酸等物质的含量也受到显著的影响。综上所述,Mn 处理下,紫萍受到明显的氧化损伤,抗氧化系统的平衡被打破,Ca²⁺-ATP 酶活性的变化明显,氨基酸、糖类、羧酸等物质的含量也受到明显的影响,即 Mn 胁迫对紫萍造成了显著伤害。

关键词:锰(Mn);紫萍;氧化损伤;傅里叶变换红外光谱分析

中图分类号:Q 945.78 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)19-0089-08

随着科学技术的发展和人们生活水平的提高,环境污染问题越来越受到人们的关注,大气污染、土壤污染、水污染等问题日益严重。而水污染中的重金属污染因其危害巨大且难以治理的特点已经成为当今环境领域的研究热点^[1]。近年来,我国地表水锰(Mn)污染现象日趋严重,呈现出季节性、突发性的特点^[2]。在采矿、冶金和化工等行业中,大量的 Mn 通过各种途径进入水体中,造成不同程度的环境污染,且能通过食物链危及人体健康^[3]。Mn 作为高等植物正常发育的必需元素,是许多重要酶的激活物,参与许多生理生化过程,但浓度过高也会表现出对植物的毒害作用^[4],例如抑制植物生长,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等。对于重金属对水生植物的污染,国内外越来越多的学者,开始致力于其毒害机理的研

究。紫背浮萍(*Spirodela polyrrhiza*)简称紫萍,因其分布广、繁殖快、材料小且试验现象比较明显等特点,被许多学者考虑其中用作研究材料^[5]。近年来,关于重金属对紫萍影响的研究较多,但其中关于 Mn 对紫萍影响的研究却甚少。

傅里叶变换红外光谱法(fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)是一种基于化合物中官能团和极性键的伸缩或弯曲振动的分析技术。FTIR 具有准确度高、简便快捷、分辨率高的特点,是一种探讨植物重金属耐性机理的可行方法^[6]。国内许多学者已经开始应用 FTIR 技术开展重金属胁迫下植物反应机理的研究^[7-9]。但是相对于其它的生理指标的测定,傅里叶变换红外光谱(FTIR)分析仍运用的较少,而应用于 Mn 对紫萍毒害机理的分析则更少。

因此,现以紫萍为研究材料,分析了不同 Mn 浓度胁迫下,紫萍的光合色素含量,活性氧水平,可溶性糖、可溶性蛋白质及脯氨酸含量,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)等抗氧化酶活性和维生素 C、维生素 E 和谷胱甘肽(GSH)等抗氧化物质含量,Ca²⁺-ATP 酶活性及紫萍傅里叶变换红外光谱图,以期为进一步研究 Mn 对紫萍的毒害机理提供依据。

第一作者简介:张立芳(1988-),女,硕士研究生,研究方向为水体重金属污染的植物毒害和植物修复。E-mail: zlfwky2015@163.com.

责任作者:施国新(1950-),男,教授,博士生导师,现主要从事水体重金属污染的植物毒害和植物修复教学与科研等工作。E-mail: gxshi@ njnu. edu. cn.

基金项目:江苏高校优秀学科建设工程资助项目(164320H106)。

收稿日期:2016-04-20

1 材料与方法

1.1 试验材料

紫背浮萍(*Spirodela polyrrhiza*)简称紫萍,为我国浮萍科中最大型的浮水植物,根5~11条,叶状体扁平,分布于温带和热带地区,紫萍广泛分布于我国南北各省市,多见于水田、水塘、湖湾及水沟的静水水面^[10]。

1.2 试验方法

试验材料紫萍于5月中旬采于南京师范大学月牙湖,随后将所采集的材料用自来水清洗,去除材料表面浊物。用自来水驯化培养5 d后选取大小和长势基本一致的紫萍。将所选的试验材料分成6组,以10%的Hoagland营养液培养(Mn的浓度为0 mmol·L⁻¹)为对照(CK),试验组分别以含浓度为0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 mmol·L⁻¹(以纯Mn计算)MnCl₂的10% Hoagland营养液培养。3次重复。材料处理期间,每3 d更换一次营养液,培养室中,光暗周期比为16 h:8 h,光照强度为240~300 μmol·m⁻²·s⁻¹,光照温度为25℃:18℃(L:D)。9 d后去离子水洗净,用吸水纸轻轻擦干后测定各项生理指标。

1.3 项目测定

1.3.1 叶绿素和类胡萝卜素含量的测定 称取0.2 g紫萍叶片,用95%乙醇冰浴研磨,离心,用分光光度计(Thermo GENESYS 10, USA)测定470、647、663 nm处的吸光度值,按照LICHTENTHALER^[11]的公式计算。

1.3.2 丙二醛(MDA)、可溶性蛋白质及可溶性糖含量的测定 MDA含量参考李合生^[12]的方法测定。可溶性蛋白质含量采用南京建成生物公司研究所的蛋白质含量试剂盒(序号:A045)测定,可溶性糖含量采用南京建成生物公司可溶性糖含量试剂盒测定。

1.3.3 O₂⁻产生速率和H₂O₂含量的测定 O₂⁻产生速率采用王爱国等^[13]的方法测定;H₂O₂含量采用南京建成生物工程研究所H₂O₂试剂盒(序号:A064)测定。

1.3.4 维生素C、维生素E和GSH含量的测定 维生素C、维生素E含量的测定运用南京建成生物公司试剂盒(序号:A009、A008)测定。GSH含量的测定方法为取0.5 g植物组织,加5 mL 5%三氯乙酸(TCA)冰浴研磨,10 000 r·min⁻¹、4℃离心20 min,取上清液,用2-硝基苯甲酸(DTNB)显色法测定412 nm下的吸光值,根据标准曲线计算谷胱甘肽(GSH)的含量^[14]。

1.3.5 过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性的测定 POD活性测定采用愈创木酚方法,以每分钟OD₄₇₀的变化为1个酶单位活性(U)^[15];SOD活性的测定采用氮蓝四唑(NBT)光还原法,以抑制光还原50%所需的酶量为1个酶活性单位(U)^[16];CAT活性的测定采用钼酸盐法,以每

分钟分解1 μmol H₂O₂所需的酶量为1个酶活性单位(U)^[17]。

1.3.6 脯氨酸含量测定 称取紫萍叶片0.5 g,加入3%磺基水杨酸研磨,1 000 g、4℃离心15 min,将上清液定容至5 mL,取部分上清液经适当稀释后用于脯氨酸含量的测定^[18]。

1.3.7 傅里叶变换红外光谱(FTIR)分析 参照付川等^[19]方法测定,取紫背浮萍冷冻干燥24 h,研磨成粉末,将粉末和溴化钾(KBr)一起研磨后压成薄片,然后置于FTIR光谱仪采样器下,在室温下测定样品的红外光谱,光谱范围4 000~400 cm⁻¹。

1.3.8 Ca²⁺-ATP酶活性的测定 Ca²⁺-ATP酶活性采用南京建成生物公司的Ca²⁺-ATP酶活性测定试剂盒(序号:A070-4)进行测定。

1.4 数据分析

每个处理3次重复,试验结果为平均值±标准差。采用Excel和SPSS软件对试验数据进行制图和统计分析。由SPSS统计软件对各数据进行“单因素方差分析”,完成数值间的差异性分析; $P<0.05$ 表示差异显著; $P<0.01$ 表示差异极显著;图中不同小写字母表示数值之间差异显著($P<0.05$),相同字母表示数值之间差异不显著($P>0.05$)。

2 结果与分析

2.1 外观生长结果

研究表明,与对照组(CK)相比,试验组经Mn胁迫9 d后,紫萍植株褪绿明显,根变黑且极易断裂,叶片发黄,部分甚至出现植株枯萎死亡的现象。且随着Mn胁迫浓度的升高,呈现上述现象越明显的特点。

2.2 不同浓度Mn胁迫对紫萍O₂⁻产生速率、H₂O₂、丙二醛及脯氨酸含量的影响

从图1可知,O₂⁻的产生速率及H₂O₂和丙二醛(MDA)含量均随着Mn浓度的增大呈现出显著的上升趋势,在0.10 mmol·L⁻¹时,O₂⁻产生速率、H₂O₂及MDA含量均达到最大值,分别为对照的3.64倍($P<0.01$)、1.45倍($P<0.01$)和2.33倍($P<0.01$)。脯氨酸含量随Mn胁迫浓度不断上升,在浓度为0.10 mmol·L⁻¹时其含量为对照的1.74倍($P<0.01$)。

2.3 不同浓度Mn胁迫下紫萍可溶性蛋白质和可溶性糖含量

由图2可知,可溶性蛋白质含量在Mn胁迫下呈现出下降趋势。与对照相比,0.10 mmol·L⁻¹时蛋白质含量减少值最大,为对照的70.10%($P<0.01$)。而可溶性糖含量则先上升后逐渐下降,浓度为0.02 mmol·L⁻¹时,其含量最高,为对照的1.30倍($P<0.01$)。

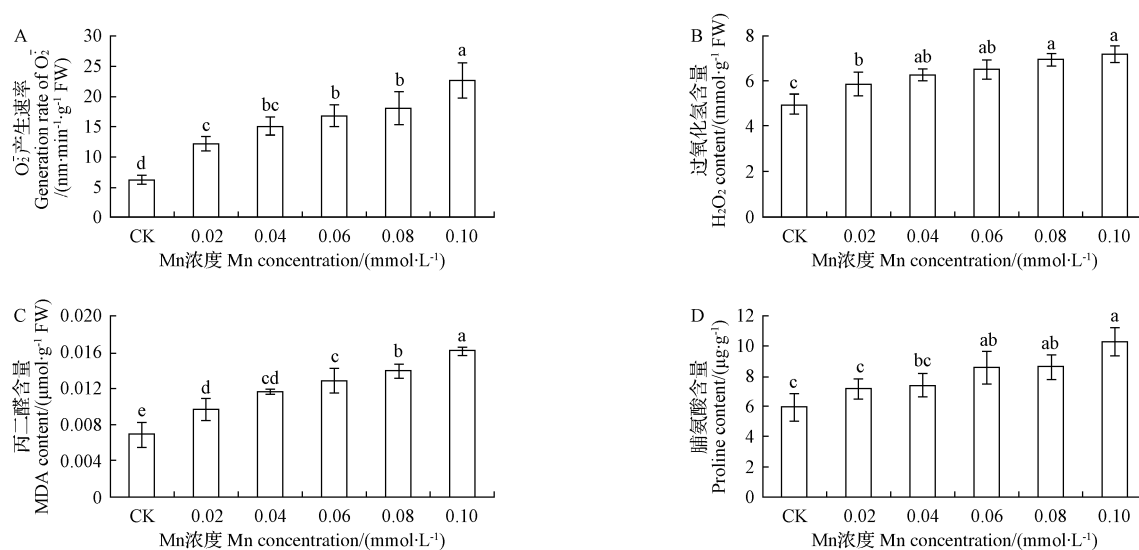
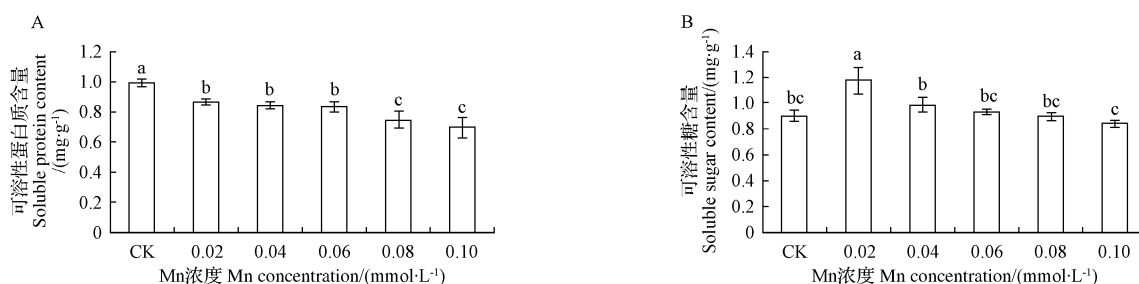
图1 不同浓度 Mn 对紫萍 O_2^- 产生速率、 H_2O_2 、丙二醛及脯氨酸含量的影响Fig. 1 Effect of different Mn treatments on generation rate of O_2^- , H_2O_2 , MDA and proline content of *S. polyrrhiza*

图2 不同浓度 Mn 胁迫下紫萍可溶性蛋白质和可溶性糖含量的变化

Fig. 2 Change of soluble protein and soluble sugar content of *S. polyrrhiza* in different Mn treatments

2.4 不同浓度 Mn 处理下紫萍光合色素含量

图3表明,随着Mn处理浓度的升高,叶绿素a、b及类胡萝卜素含量均降低。在Mn浓度 $0.10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,3种光合色素的含量达到最小值,分别为对照的60.34% ($P<0.01$)、65.97% ($P<0.05$)、81.86% ($P<0.05$)。

2.5 不同浓度 Mn 处理下紫萍抗氧化酶活性的变化

由图4可知,过氧化物酶(POD)活性随Mn胁迫不断提高,在 $0.10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时POD活性达到最大值,为对照的1.40倍 ($P<0.01$)。超氧化物歧化酶(SOD)和

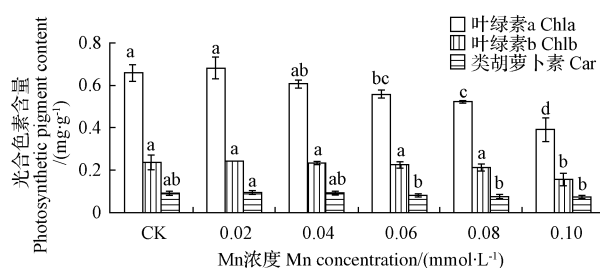


图3 不同浓度 Mn 胁迫下紫萍光合色素含量的变化

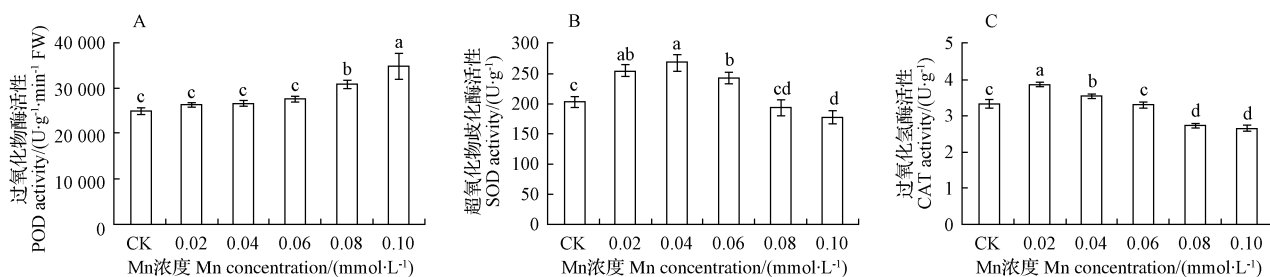
Fig. 3 Change of the photosynthetic pigment content of *S. polyrrhiza* in different Mn treatments

图4 不同浓度 Mn 处理下紫萍 POD、SOD、CAT 活性的变化

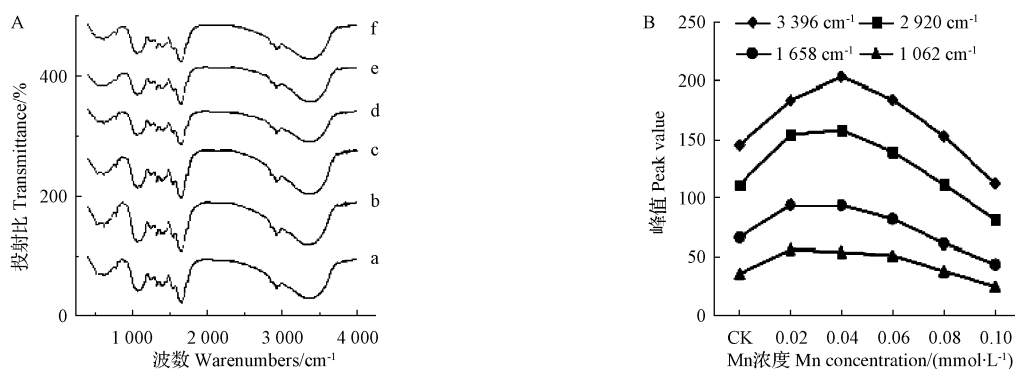
Fig. 4 Change of the activities of antioxidant enzymes of *S. polyrrhiza* in different Mn treatments

过氧化氢酶(CAT)的活性则均随 Mn 浓度先上升后下降,浓度为 0.02 mmol · L⁻¹ 和 0.04 mmol · L⁻¹ 时 CAT、SOD 活性达到最大值,分别为对照的 1.16 倍($P<0.01$)、1.32 倍($P<0.01$)。Mn 浓度为 0.10 mmol · L⁻¹ 时 CAT 和 SOD 的活性分别为对照的 79.51%($P<0.01$)、87.40%($P<0.05$)。

2.6 不同浓度 Mn 胁迫下紫萍傅里叶变换红外光谱(FTIR)分析结果

由图 5 可知,3 396 cm⁻¹ 是典型的缔合-OH 伸缩振动

吸收,以及氨基酸、核苷酸、蛋白质等物质中 N-H 键的伸缩振动吸收的叠加;2 920 cm⁻¹ 附近是羧酸 O-H 与甲基伸缩振动重叠峰;1 658 cm⁻¹ 附近的峰主要是指氨基酸、多肽类和蛋白质类物质 N-H 酰胺键的伸缩振动峰;1 062 cm⁻¹ 附近的峰主要是醚类、醇或酚类等碳水化合物中的 C-O 基团的伸缩振动形成。紫萍光谱图显示以上 4 个波处的峰值均先上升后下降,说明 Mn 胁迫下紫萍体内氨基酸、糖类、蛋白质、羧酸等物质的含量受到显著的影响,且已发生了严重的膜质过氧化。



注:A. 傅里叶红外光谱图,a,b,c,d,e,f 分别代表 0、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 mmol · L⁻¹;B. 特征峰变化图。

Note: A. Fourier infrared spectrum, including a, b, c, d, e, f, representing 0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10 mmol · L⁻¹; B. characteristic peak variation.

图 5 不同浓度 Mn 胁迫下紫萍傅里叶红外光谱图和特征峰变化

Fig. 5 The fourier infrared spectrum and characteristic peak variation of *S. polyrrhiza* under different Mn treatments

2.7 不同浓度 Mn 胁迫下紫萍 Ca²⁺-ATP 酶活性的变化

从图 6 可以看出,Ca²⁺-ATP 酶活性随 Mn 胁迫先上升后逐渐下降,在浓度为 0.02 mmol · L⁻¹ 和 0.04 mmol · L⁻¹ 时,Ca²⁺-ATP 酶活性分别为对照的 1.97 倍($P<0.01$)、1.48 倍($P<0.05$),而 Mn 浓度为 0.10 mmol · L⁻¹ 时,Ca²⁺-ATP 酶活性为对照的 14.12% ($P<0.01$)。

2.8 不同浓度 Mn 胁迫下紫萍维生素 C、维生素 E 和谷胱甘肽含量

由图 7 可知,维生素 C、维生素 E 和谷胱甘肽(GSH)含量在 Mn 胁迫下均呈现显著的上升趋势,Mn 浓度为 0.10 mmol · L⁻¹ 时维生素 C、维生素 E、GSH 含

分别为对照的 1.56 倍($P<0.01$)、1.32 倍($P<0.05$)和 1.71 倍($P<0.01$)。

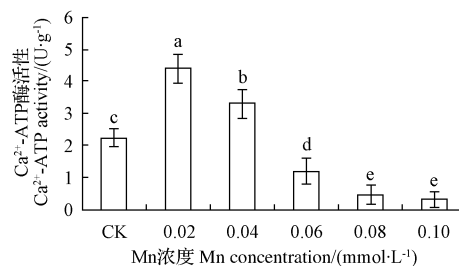


图 6 不同浓度锰离子胁迫下紫萍 Ca²⁺-ATP 酶活性变化

Fig. 6 The Ca²⁺-ATP enzyme activity change of *S. polyrrhiza* under Mn treatments

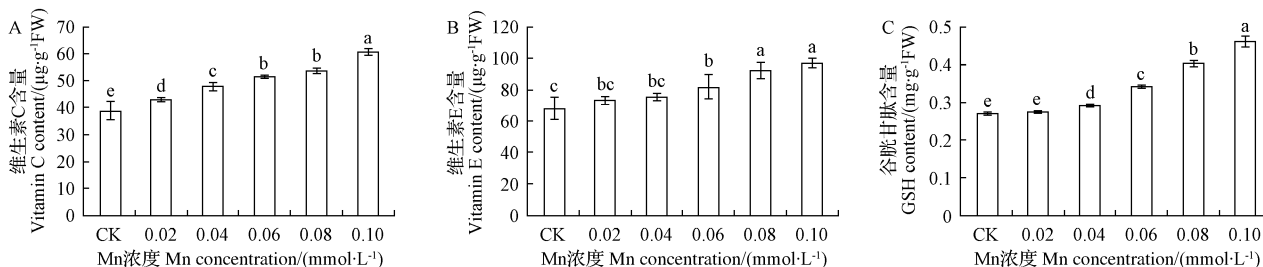


图 7 不同浓度 Mn 胁迫下紫萍维生素 C、维生素 E 和谷胱甘肽含量的变化

Fig. 7 Change of the vitamin C, vitamin E and GSH contents of *S. polyrrhiza* in different Mn treatments

3 讨论

水生植物受到重金属胁迫时,重金属元素就会在植物体内不断累积,并通过食物链危及人类健康。该研究中,Mn 对植物的毒害作用是多种反应的综合表现,试验组在 Mn 处理 9 d 后,紫萍出现多种毒害症状,如植株褪绿,根变黑且极易断裂,叶片发黄,部分植物甚至枯萎死亡。此时植物体内的活性氧(ROS)已大量积累,可溶性蛋白质和可溶性糖含量下降,脯氨酸含量增加,植物的抗氧化系统被打破。

植物遭受逆境胁迫时,就会产生大量的 ROS,引起 ROS 平衡紊乱,过量的 ROS 能够对植物造成伤害。该研究中紫萍的 O_2^- 产生速率急剧提高以及 H_2O_2 大量积累,说明紫萍中原有的活性氧代谢被破坏。而 H_2O_2 又能与 O_2^- 发生 Harber-Weis 反应,产生更具毒性的 $\cdot OH$,启动膜脂过氧化^[20]。有研究表明重金属胁迫造成的植物体内活性氧的积累是引发膜脂过氧化的重要原因^[21]。而 MDA 是植物逆境条件下发生膜脂过氧化的产物之一,可与核酸、蛋白质、氨基酸等活性物质形成不溶性的化合物(脂褐素)沉淀,干扰细胞的正常生命活动,其含量的高低表示细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件耐受的强弱程度^[22],因此 MDA 含量常被用来衡量植物体内的膜脂过氧化水平。该研究中,MDA 含量显著上升说明紫萍的膜系统已经发生严重的过氧化损伤,植物受到伤害。重金属胁迫通常导致植物体可溶性蛋白质含量的降低^[23]。该试验结果表明,紫萍可溶性蛋白质含量下降与 Mn 处理抑制了高羊茅叶片可溶性蛋白质的合成^[24]结果一致,其主要原因可能是 Mn 胁迫诱导的活性氧引起了蛋白质的变性,导致蛋白质的降解,同时 Mn 破坏了蛋白质合成过程中的某些酶的结构,从而大大减弱了植物合成新蛋白质的能力^[25],最终使植物遭受伤害。植株在逆境条件下会表现为可溶性糖的含量升高,这是因为可溶性糖不但能参与细胞的渗透调节作用,还能作为信号物质调控植物对环境的适应能力^[26],该研究中,可溶性糖在较低浓度 Mn 处理下短暂的积累,说明可溶性糖在抵抗 ROS 对植物的毒害作用中发挥着重要作用。其含量上升的原因可能为光合作用产物的合成受阻,或不溶性糖的降解^[27]。而高浓度 Mn 胁迫造成了紫萍代谢的紊乱,超出其自身的渗透调节能力,造成了可溶性糖含量的下降,原因主要是细胞中游离的重金属离子抑制了不溶性糖转化为可溶性糖的过程中某些酶的活性。脯氨酸同样作为渗透调节物质,是植物蛋白组分中水溶性最大的氨基酸,具有清除活性氧和保护蛋白质、生物膜等功能,可起到使细胞免受重金属伤害的作用^[28]。该研究中,脯氨酸含量增加,是植物在逆境胁迫下产生的一种适应性反应。紫萍可以通过调节体内游离脯氨酸的含量来抵抗重金属胁迫^[29],这对于缓解重金属对其毒害具有重要的意义。

叶绿素作为植物进行光合作用的主要色素,其含量的高低直接反映植物光合作用能力的强弱以及其遭受重金属毒害的程度^[30]。该研究中,3 种光合色素的含量随 Mn 胁迫下降,主要原因是 Mn 作用于叶绿素合成途径中几种酶的肽链中富含-SH 的部分,抑制了酶的活性,从而阻碍了光合色素的合成^[31]。叶绿素是植物进行光合作用所必需的,叶绿素含量减少,必然导致植物光合作用减弱及光合产物的合成受阻,故出现上述可溶性糖含量暂时上升的现象。与此同时,光合色素含量的变化与外观紫萍植株褪绿的现象一致。

SOD、CAT 和 POD 是植物体抗氧化酶系统的重要组成部分,其中 SOD 能够通过歧化反应催化超氧化物,如将 O_2^- 转变为 O_2 和 H_2O_2 , H_2O_2 随后被 CAT 和 POD 清除,从而减少 H_2O_2 对植物造成的伤害。该研究中 SOD 和 CAT 活性在较低 Mn 处理条件下有提高的趋势,这与 Cu 对紫萍的研究结果一致^[32],说明紫萍在受到迫害时,可通过提高 SOD 活性的方式对其体内聚积的活性氧自由基进行清除以保护机体,但当 Mn 浓度过高时,这种保护作用则明显减弱。有研究发现,一定浓度的重金属对紫萍体内 CAT 有激活作用^[33],这与该研究出现的现象一致。而该研究中高浓度 Mn 处理下 SOD 和 CAT 活性下降,其原因是重金属离子可与蛋白质巯基头部结合,抑制酶活性,改变蛋白质结构^[34]。植物对重金属的毒害响应时,往往表现为 POD 活性的升高^[35]。该研究中 POD 活性不断上升,这充分说明,POD 稳定性强,能够弥补紫萍在受到氧化胁迫时 CAT 活性的下降,在清除活性氧的反应中起主要作用。这 3 种抗氧化酶活性的变化,说明紫萍体内抗氧化酶系统平衡被打破,从而出现 O_2^- 产生速率明显加快、 H_2O_2 含量和 MDA 含量明显增加以及可溶性糖、可溶性蛋白质含量下降,脯氨酸含量明显上升的氧化胁迫现象。

维生素 C、维生素 E 和 GSH 是植物体内主要的非酶促抗氧化剂,可以直接猝灭 ROS^[36]。维生素 C 是一种抗氧化营养素,可以参与植物的抗氧化作用,在一定生理范围内能有效地清除活性氧自由基,从而防止活性氧自由基对细胞的伤害^[37]。维生素 E 是脂溶性分子,它由于酚基的存在,使其具有较强的抗氧化作用,能通过清除脂质过氧化物所产生的自由基而稳定生物膜的脂双层,使细胞免受过氧化物的伤害,是一种有效的抗氧化剂^[38]。GSH 可直接与 ROS 反应,在一定程度上能够减轻重金属对植物的毒害作用^[39]。该研究中,维生素 C、维生素 E 和 GSH 含量均上升,说明 Mn 胁迫促使紫萍的抗氧化系统启动,共同参与紫萍内 ROS 的清除。此外 GSH 还可通过与 GSH-PX-RX 酶系共同抑制脂质过氧化的启动和终止脂质过氧化的发展^[40]。这说明上述 Mn 胁迫下紫萍中膜脂过氧化加剧也促进了 GSH 含量的不断增加。3 种非酶促抗氧化剂与抗氧化酶共同参

与抗氧化过程,减弱 Mn 对紫萍的氧化损伤。

有研究表明,植物在受到外界胁迫时,细胞内的钙离子浓度会迅速升高^[41],过高的钙离子浓度会干扰细胞能量代谢系统和许多生理功能,甚至导致细胞死亡。为维持细胞正常的代谢,必须把多余的 Ca^{2+} 转运出去。 Ca^{2+} -ATP 酶通常被叫做 Ca^{2+} 泵,是真核生物细胞中重要的 Ca^{2+} 转运体,质膜上的 Ca^{2+} -ATP 酶能将高浓度的 Ca^{2+} 转运到非原质体空间,同时线粒体膜、高尔基体膜、液泡膜等能够逆浓度梯度将 Ca^{2+} 泵入线粒体、高尔基体或液泡内进行储存,进而调节细胞内的 Ca^{2+} 平衡,维持细胞内环境的稳定性^[42-44]。该试验研究中, Ca^{2+} -ATP 酶活性先升高后降低,原因是低浓度 Mn 作用时, Ca^{2+} -ATP 酶能通过主动运输对胞内 Ca^{2+} 平衡起调节作用^[45],高浓度 Mn 胁迫下 Ca^{2+} -ATP 酶活性下降,可能与重金属胁迫下 Ca 调素下降而使质膜 Ca^{2+} -ATP 酶活性下降有关^[46]。 Ca^{2+} -ATP 酶活性的变化说明,Mn 胁迫打破了紫萍细胞内 Ca^{2+} 平衡,高水平 Ca^{2+} 无法有效泵出细胞,进而影响细胞的转录水平,最终导致紫萍细胞活性下降^[47]。

FTIR 图谱中不同的峰代表不同的基团。其中 $3\ 396\ \text{cm}^{-1}$ 处有吸收峰,是典型的缔合-OH 伸缩振动吸收以及氨基酸、核苷酸、蛋白质等物质中 N-H 键的伸缩振动吸收的叠加。而羟基主要来自于紫萍中的纤维素、半纤维素和多糖等碳水化合物^[48]。该试验该处理峰先升高后降低。说明 Mn 作为植物生长的必需矿质元素,低浓度 Mn 刺激了细胞内部含-OH 的物质合成以及使细胞持续分泌纤维素、半纤维素等碳水化合物。随 Mn 继续升高,细胞壁的羟基吸附结合 Mn,使细胞壁表面的氢键减弱,导致这类物质合成的减少,与上述可溶性糖含量的变化一致,共同反映出过高的 Mn 对紫萍的生长造成了一定程度的破坏。 $2\ 920\ \text{cm}^{-1}$ 附近是羧酸·OH 与甲基伸缩振动重叠峰,主要来自维生素和种膜及细胞壁的组成成分^[49]。该处峰值先上升后下降,说明低浓度的 Mn 作用下,由于抗性机制紫萍细胞不断的分泌有机酸螯合 Mn,导致羧酸类物质合成增多。但高浓度 Mn 对植物的毒害加深,影响了有机酸的分泌,同时有机酸仍不断的螯合 Mn,造成羧酸·OH 减少,峰值降低。 $1\ 658\ \text{cm}^{-1}$ 附近的峰主要是指氨基酸、多肽类和蛋白质类物质 N-H 酰胺键的伸缩振动峰^[50]。该试验中,低浓度的 Mn 诱导了氨基酸等物质的合成,用于络合多余的 Mn,高浓度的 Mn 造成了植物体内活性氧积累,加速了此类物质的分解从而使峰值下降。 $1\ 062\ \text{cm}^{-1}$ 附近的峰主要是醚类,醇或酚类等碳水化合物中的 C-O 基团的伸缩振动形成^[51]。该处的峰值的变化说明随 Mn 的升高,植物体内发生了膜质过氧化,脂肪族酮类化合物在细胞内积累,这与上述 MDA 含量明显增加结果一致。而过高的 Mn 浓度破坏了植物体内的脂过氧化机制,造成了

此类物质过氧化产物减少,峰值下降^[52-53]。从红外光谱可以看出,经过重金属 Mn 处理过的紫萍,吸收峰所对应的波数相对稳定,而其吸收强度有所变化,说明 Mn 毒害并不会改变紫萍体内基本的化学组成成分,但对其含量有所影响。

综上所述,紫萍在 Mn 胁迫下,产生了大量的活性氧,MDA 含量明显增加,光合色素和可溶性蛋白质含量下降,可溶性糖短暂上升后明显下降,抗氧化系统的平衡紊乱。脯氨酸含量明显增加,说明其在紫萍抗 Mn 胁迫中发挥着重要的作用。同时紫萍细胞内外的 Ca^{2+} 的平衡被打破,而傅里叶变换红外光谱分析进一步证实,Mn 毒害使紫萍体内必需物质(如氨基酸、糖类、羧酸等)的含量发生了显著的变化,紫萍细胞的膜质过氧化严重,Mn 对紫萍造成严重的氧化损伤。以上结果为进一步研究重金属对植物的毒害机理提供了一定的数据资料。

参考文献

- [1] 王宏镜,束文圣,蓝崇钰. 重金属污染生态学研究现状与展望[J]. 生态学报,2005,25(3):596-605.
- [2] 陶岳云,倪木子,夏圣骥. 地表水锰污染在水处理中去除研究进展[J]. 水科学与工程,2015(5):62-65.
- [3] 夏海威,吴娟,黄敏,等. 外源鸟氨酸对菹草(*Potamogeton crispus* L.) 抗镉胁迫能力的影响[J]. 湖泊科学,2014,26(2):288-296.
- [4] 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.
- [5] 徐校晖,林海芳,邹克勤. Fe^{2+} 对紫背浮萍生长和生理生化特性的影响[J]. 北方园艺,2012(11):15-18.
- [6] 薛生国,黄艳红,王钧,等. 采用 FTIR 法研究酸模叶蓼对锰胁迫生理响应的影响[J]. 中南大学学报(自然科学版),2011,42(6):1528-1532.
- [7] ZHANG X B, LIU P, LI D T, et al. FTIR spectroscopic characterization of chromium-induced changes in root cell wall of plants[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2008, 28(5):1067-1070.
- [8] 顾艳红,刘鹏,蔡琪敏,等. FTIR 结合生理特性研究镉胁迫对果灰藓的影响[J]. 光谱学与光谱分析,2009,29(3):620-623.
- [9] GONG N, LIR H, MENG Z F, et al. Physiological response of *Brassica chinensis* L. seeds in germination to cadmium toxicity by FTIR-ART spectroscopy[J]. Journal of Agro-environment Science, 2010, 29(1):9-14.
- [10] 吴征镒. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,2002:32-34.
- [11] LICHTENTHALER H K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembrance[J]. Methods in Enzymology, 1987, 148:350-382.
- [12] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000:29-31.
- [13] 王爱国,罗广华. 植物的超氧自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学通讯,1990(26):55-57.
- [14] 陈建勋,王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州:华南理工大学出版社,2002:122-126.
- [15] 张志良,瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 3 版. 北京:高等教育出版社,2003:45-46.
- [16] BEYER W F, FRIDOVICH I. Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in condition[J]. Analytical Biochemistry, 1987, 161:559-566.
- [17] GÓTH L. A simple method for determination of serum catalase activity

- and revision of reference range[J]. Clinica Chimica Acta, 1991, 196: 143-151.
- [18] 覃勇荣, 农艳春, 潘振兴, 等. 桂西北 65 种石山植物的丙二醛和脯氨酸含量[J]. 贵州农业科学, 2012, 40(9): 49-53.
- [19] 付川, 余顺慧, 黄怡民, 等. 紫花苜蓿对铜胁迫生理响应的傅里叶变换红外光谱法研究[J]. 生态学报, 2014, 34(5): 1149-1155.
- [20] OKSANA S, ABHAY K, DARIUSZ L, et al. Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2013, 35(4): 985-999.
- [21] 江行玉, 赵可夫. 植物重金属伤害及其抗性机理[J]. 应用与环境生物学报, 2001, 7(1): 92-99.
- [22] 丁春霞, 施国新, 徐勤松, 等. 水鳖叶片对不同浓度 Pb^{2+} 胁迫的生理和结构响应[J]. 广西植物, 2009, 29(6): 768-773.
- [23] JOHN R, AHMAD P, GADGIL K, et al. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L[J]. Plant Soil Environment, 2008, 54(7): 262-270.
- [24] 郝雅宾, 李凤山, 刘海山. 锰、铁胁迫对商陆和高羊茅可溶性蛋白的影响[J]. 福建师范大学学报, 2013, 29(3): 97-103.
- [25] 张永霞, 石贵玉, 李霞, 等. 锰、铬胁迫对罗汉果幼苗生理生化指标的影响[J]. 中国农学通报, 2011, 27(2): 12-16.
- [26] 徐靖宇, 周研, 徐明, 等. 盐胁迫对大豆萌发中可溶性含量影响的研究[J]. 辽宁农业科学, 2014(6): 1-5.
- [27] 唐咏, 王萍萍, 张宁. 植物重金属毒害作用机理研究现状[J]. 沈阳农业大学学报, 2006, 37(4): 551-555.
- [28] 周希琴, 莫灿坤. 植物重金属胁迫及抗氧化系统[J]. 新疆教育学院学报, 2003, 19(2): 103-108.
- [29] 覃光球, 严重玲, 韦莉莉. 秋茄幼苗叶片单宁、可溶性糖和脯氨酸含量对 Cd 胁迫的响应[J]. 生态学报, 2006, 26(10): 3366-3371.
- [30] 黄敏, 施国新, 夏海威, 等. 不同 pH 处理对菹草 (*Potamogeton crispus* L.) Cr^{6+} 毒害效应的影响[J]. 湖泊科学, 2014, 26(4): 607-615.
- [31] YANG H Y, SHI G X, WANG H X, et al. Involvement of polyamines in adaptation of *Potamogeton crispus* L to cadmium stress[J]. Aquatic Toxicology, 2010, 100(3): 282-288.
- [32] 途俊芳, 刘登义, 王兴明. Cu 胁迫对紫背萍的生长及活性氧清除系统的影响[J]. 生物学杂志, 2006, 23(3): 11-21.
- [33] 李宏文, 梁娜. 水生植物的生态敏感度研究[J]. 农业环境保护, 2001, 20(3): 160-163.
- [34] MUHAMMAD Y A, RUMANA S, MUMTAZ H, et al. Toxic Effect of Nickel (Ni) on growth and metabolism in germinating seeds of sunflower (*Helianthus annuus* L.) [J]. Biological Trace Element Research, 2011, 143(3): 1695-1703.
- [35] 夏卓英, 张明强, 王良峰. 不同浓度 $Pb(II)$ 对稀脉萍和紫萍的毒害效应[J]. 环境科学与技术, 2009, 32(6): 123-129.
- [36] 吴娟, 施国新, 黄敏, 等. 外源钙对菹草 (*Potamogeton crispus* L.) 汞胁迫的影响效应[J]. 湖泊科学, 2014, 26(3): 423-431.
- [37] 于天昊, 洪宇, 谢庆恩, 等. 外源蔗糖、VC 对铬诱导的拟南芥主根生长抑制和过氧化物积累的缓解作用[J]. 中国农学通报, 2010, 26(6): 289-292.
- [38] 张一弓, 张丽静, 傅华. 植物维生素 E 合成酶基因克隆及其逆境生理研究进展[J]. 草业学报, 2009, 18(5): 235-242.
- [39] 龚红梅, 沈野. 植物对重金属锌耐性机理的研究进展[J]. 西北植物学报, 2010, 30(3): 633-644.
- [40] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2006: 34-37.
- [41] YANG T B, POOVAIAH B W. Calcium/calmodulin-mediated signal network in plants[J]. Trends Plant Sci, 2003, 8(10): 505-513.
- [42] NUMBER T, SCHEEL D. Singal transmission in the plant immune response[J]. Trends Plant Sci, 2001, 6(8): 372-380.
- [43] SNEDDEN W A, FROMM H. Calmodulin as a versatile calcium signal transducer in plant[J]. New Phytol, 2001, 151: 35-66.
- [44] HU X L, JIANG M Y, ZHANG J H, et al. Calcium-calmodulin is required for abscisic acid-induced antioxidant defense and function both upstream and downstream of H_2O_2 production in leaves of maize (*Zea mays*) plants[J]. New Phytol, 2007, 173: 27-28.
- [45] LIU S L, YANG R J, MA M D, et al. Effects of exogenous NO on the growth, mineral nutrient content, antioxidant system, and ATPase activities of *Trifolium repens* L. plants under cadmium stress[J]. Acta Physiol Plant, 2015, 37(1): e1721.
- [46] KABAŁA K, JANICKA-RUSSAK M, BURZYŃSKI M, et al. Comparison of heavy metal effect on the proton pumps of plasma membrane and tonoplast in cucumber root cells[J]. J Plan Physiol, 2008, 165: 278-288.
- [47] BURZYŃSKI M, KOLANO E. *In vivo* and *in vitro* effects of copper and cadmium on the plasma membrane H^+ -ATPase from cucumber (*Cucumis sativus* L.) and maize (*Zea mays* L.) roots [J]. Acta Physiol Plant, 2003, 25: 39-45.
- [48] REN L M, CHENG Z F, LIU P, et al. Studies on the physiological response of *Phytolacca americana* to manganese toxicity by FRIR spectroscopy [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2008, 28(3): 582-585.
- [49] 薛生国, 朱锋, 叶晟, 等. 紫茉莉对铅胁迫生理响应的 FTIR 研究[J]. 生态学报, 2011, 31(20): 6144-6148.
- [50] 付川, 余顺慧, 黄怡民, 等. 紫花苜蓿对铜胁迫生理响应的傅里叶变换红外光谱法研究[J]. 生态学报, 2014, 34(5): 1149-1155.
- [51] XUE S G, HUANG Y H, WANG J, et al. Physiological response of *Polygonum lapathifolium* to anganese stress by FTIR Spectroscopy[J]. Journal of Central South University (Science and Technology), 2011, 42(6): 1528-1532.
- [52] 张晓斌, 刘鹏, 李丹婷. 铬诱导植物根细胞壁化学成分变化的 FTIR 表征[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(5): 1067-1070.
- [53] 任立民, 成则丰, 刘鹏, 等. 美洲商陆对锰毒生理响应的 FTIR 研究[J]. 中光谱学与光谱分析, 2008, 28(3): 582-585.

The Oxidative Damage of *Spirodela polyrrhiza* Under Mn Stress

ZHANG Lifang¹, WANG Jinghua¹, SHI Guoxin¹, YANG Haiyan²

(1. College of Life Science, Nanjing Normal University/Jiangsu Key Laboratory of Biodiversity and Biotechnology, Nanjing, Jiangsu 210023;
2. Jiangsu Province Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Nanjing, Jiangsu 210023)

Abstract: The effect of Mn (0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10 mmol · L⁻¹) in different concentrations in the *Spirodela polyrrhiza* was studied, and the oxidative damage, antioxidant system and the influence of Ca^{2+} -ATP enzyme activity in the *S. polyrrhiza* were analyzed. The change of the infrared spectra was analyzed by Fourier transform infrared

固体酸调配营养液对竹芋生长和地上部对养分吸收的影响

王男男¹, 王殿武¹, 陈延华², 董 晔^{1,2}, 王甲辰²

(1. 河北农业大学 资源与环境学院, 河北 保定 071001; 2. 北京市农林科学院 植物营养与资源研究所, 北京 100097)

摘 要:以“青苹果”竹芋为试材, 采用盆栽种植与室内分析相结合的方法, 分析了在固体酸调配营养液不同 pH 条件下对竹芋生长及地上部对养分吸收的影响。结果表明: 在自来水配制和固体酸调配营养液 pH 的植株可以正常生长。与 CK 相比, 各固体酸处理下叶面积不存在显著性差异; 第 106 天时, 除处理 N1+SPA1 和 N2+SPA2 外, CK 与其它处理株高差异不显著, 固体磷酸处理下植株叶绿素含量均呈增长趋势; Mo、Zn 含量最高的 N3+ASA3 和 N3+SPA3 处理植株的 2 种元素含量相对处理 CK 显著降低了 46.50%、23.13%, N3+SPA3 处理的植株 Mo 含量在所有固体酸处理中最高, 但积累量显著降低了 45.09%。综上, 该试验选取 N3+SPA3 为自来水配制配方肥料营养液的最佳养分浓度和固体磷酸调酸剂。

关键词:固体调酸剂; 养分吸收; 竹芋

中图分类号:S 147.4; S 682.1⁺61 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)19-0096-05

竹芋(*Maranta arundinacea* L.) 属竹芋科竹芋属草本植物, 是主要观叶植物之一, 因其四季常绿, 叶片斑纹艳丽多彩, 深受消费者喜爱。竹芋原产于巴西, 喜高温

多湿的半阴环境, 适宜在酸性环境下生长^[1]。花卉生产园区为使其健壮生长, 多采用去离子水配制营养液, 但家庭园艺往往采用自来水浇灌。北方自来水 pH 较高, 有些地方可达 8.5 以上, 水中氯离子含量偏高, 对植物生长及元素吸收造成不利影响^[2], 致使营养失衡、株体变弱, 失去观赏功能。目前, 关于营养液的研究往往过于繁琐, 不适宜家庭园艺中简单便捷的施肥方式^[3-4]。该试验在参考通用标准配方, 用自来水配制、固体酸调配营养液 pH 的条件下, 研究营养液在不同浓度梯度下对竹芋生长、养分吸收和累积的影响, 进而获得最佳肥料、浓度、固体酸添加剂量, 以期为家庭园艺简化水肥一体

第一作者简介:王男男(1988-), 女, 河北沧州人, 硕士研究生, 研究方向为土壤养分资源与利用。E-mail: 376874686@qq.com.

责任作者:王甲辰(1965-), 男, 博士, 研究员, 现主要从事功能肥料庭院园艺肥料与施肥等研究工作。E-mail: 13021121195c@163.com.

基金项目:北京市农林科学院科技创新能力建设资助项目(KJCX20140412)。

收稿日期:2016-04-26

spectroscopy (FTIR). The results showed that Mn stress caused obvious oxidative damage, such as the dramatical increase of the generation rate of O_2^- , the accumulation of H_2O_2 and MDA in great quantities, and the obvious decreases of the content of soluble protein and photosynthetic pigment in leaves. The content of the soluble sugar decreased after an increase in short. The antioxidant system was destroyed. Along with the increase of Mn concentration, the activity of catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) declined after increasing. But the activity of peroxidase (POD) in leaves increased gradually, and the levels of GSH, vitamin C and vitamin E increased sharply. The content of proline increased obviously. The activity of the Ca^{2+} -ATP enzyme obviously decreased after increasing. The infrared spectra showed that the peak increased firstly and then decreased in the place of $3\ 396\ cm^{-1}$, $2\ 920\ cm^{-1}$, $1\ 658\ cm^{-1}$ and $1\ 062\ cm^{-1}$, which reflected the content of amino acid, sugars, proteins and carboxylic acid were obviously effected by the Mn stress. In a conclusion, oxidative damage of the *S. polyrrhiza* was obvious under Mn treatment. The balance of antioxidant system has been broken. The activity of the Ca^{2+} -ATP enzyme changed obviously. In addition, the content of amino acids, sugars, carboxylic acid were also significantly affected. In other words, *S. polyrrhiza* was obviously damaged by the Mn stress.

Keywords: Mn; *Spirodela polyrrhiza*; oxidative damage; fourier transform infrared spectroscopy(FTIR)