

油茶幼苗体内锰离子富集规律及其生理响应

廖 阳, 闫荣玲, 龚令军, 程 俊, 张 敬

(湖南科技学院 生命科学与化学工程系, 湖南 永州 425199)

摘要: 为了解油茶幼苗体内锰离子富集规律及其与生理响应间的关系, 以水培油茶幼苗为材料, 在营养液中添加不同量的锰离子形成锰离子浓度梯度(0.005、0.1、1、4、8、16 mmol/L), 测定了油茶幼苗根、茎、叶中的锰离子含量以及叶片的相关生理指标。结果显示, 在处理 20 d 内, 随锰离子浓度增加和处理时间延长, 油茶幼苗根、茎、叶中的锰含量逐渐增加, 且叶中的锰含量逐渐超过根、茎; 叶中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性呈先增加后降低趋势, 且活性变化程度 SOD 大于 POD, 而丙二醛(MDA)含量则呈持续增加趋势; 叶片中锰离子富集与生理响应之间紧密关联, 且 1 600、2 200 mg/kg 是叶片生理响应的 2 个临界锰含量。可见, 在高锰条件下, 油茶各器官发生不同程度的锰离子富集, 并激发灵敏的生理响应。

关键词: 油茶; 锰离子; 富集规律; 生理响应

中图分类号: Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2014)05-0048-04

Manganese Ion Enrichment Law and Physiological Response in *Camellia oleifera* Seedlings

LIAO Yang, YAN Rong-ling, GONG Ling-jun, CHENG Jun, ZHANG Jing

(Department of Life Sciences and Chemistry Engineering, Hunan University of Science and Engineering, Yongzhou 425199, China)

Abstract: Under hydroponic culture condition, different amounts of manganese ion were added into nutrient solution to form a concentration gradient(0.005, 0.1, 1, 4, 8, 16 mmol/L), and then the laws of manganese ion(Mn) enrichment in the root, stem, leaf and the relationship between Mn enrichment and physiological response in leaf of *Camellia oleifera* seedlings were researched. The results showed that, with the increase of Mn concentration and dealing days(20 d in total), the Mn content in the root, stem, leaf of *Camellia oleifera* seedlings increased gradually, and leaf had more Mn content than the other two organs finally; the SOD, POD activities in leaf increased firstly and then decreased, and the activity change degree of SOD was greater than POD, while MDA content increased constantly; there was a close relationship between the manganese ion accumulation and physiological response, and 1 600, 2 200 mg/kg might be two critical Mn content for leaf's physiological response. The results suggest that, under the high Mn concentration condition, organs of *Camellia oleifera* enrich manganese ion in different degree, and stimulate sensitive physiological response to cope with the rise of manganese ion.

Key words: *Camellia oleifera*; manganese ion; enrichment law; physiological response

油茶(*Camellia oleifera*)是一种重要的木本油料作物, 其因生命周期长、产量高、营养丰富、不占耕地等优点

受到人们越来越多的重视。油茶栽培是整个油茶产业的重要基础, 土壤环境影响着植物的生长发育及产量。锰

收稿日期: 2013-11-18

基金项目: 湖南科技厅科研项目(2013NK4112); 湖南省重点学科建设项目(2011-76); 湖南省创新团队项目(2012-318); 永州市科技局科研项目(永财企[2012]7号); 校大学生研究性学习课题(湘科院教字[2012]23号)

作者简介: 廖 阳(1983-), 男, 湖南衡阳人, 讲师, 硕士, 主要从事生理学与解剖学研究。E-mail: liaoyang1127@163.com

是植物生长所必需的微量元素之一,植物根际锰离子浓度大小与生长情况直接相关。研究表明,适量的锰离子对植物的生长发育有积极作用,对保证植物光合作用的进行、激发酶的活性、维持细胞器结构等有重要意义^[1]。但当植物根际锰离子浓度超过作物正常需要范围时则形成锰胁迫。由于人类活动及植物根系与土壤微环境互作等因素,锰胁迫已经成为影响作物生长发育及产量的重要因素之一^[2-4]。已有研究表明,不同植物对锰胁迫表现出不同的耐受性,锰胁迫会导致植物出现多种病症甚至死亡^[5-6],其毒害效应表现在植株的表现、组织、细胞及生理生化等多个水平上,如生长缓慢、质膜透性增加、组织坏死、抗氧化酶活性增加、其他离子吸收受到抑制等^[7-9]。

高浓度重金属离子对植株产生的毒害效应以及对细胞生理状态的影响,均基于根系对重金属离子的吸收并不断向地上部分进行转移。前人探讨了多种植物对不同重金属离子吸收的特性^[10-12],发现不同植物对锰等金属离子的吸收特性和富集规律不尽相同^[8,13]。以往研究主要集中在草本或者水生植物上,鲜有关于油茶对锰离子吸收特性和富集规律的报道。鉴于此,探讨了不同锰离子浓度下油茶幼苗不同器官对锰离子的富集规律与生理响应,以及两者的相关性,为后续相关研究以及实际生产提供参考。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试材料为树龄1a的湘林7号油茶幼苗。选择长势一致、状态良好、根系发达的幼苗110株,用于分组处理。

1.2 试验设计

将油茶幼苗置于5组含不同浓度锰离子的霍兰氏培养液中培养,各组锰离子浓度分别为0.005(CK)、0.1、1、4、8、16 mmol/L。根据需要各组分配的幼苗数分别为15、15、15、15、35、15株。培养过程中维持培养液pH值在5.5左右,4d更换1次培养液,并向培养液中通氧气。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 植株体内的锰含量 采用分光光度法^[14]测定。以二氧化锰为锰源,以显色后测定的OD值为横坐标、锰离子浓度为纵坐标,得到标准曲线和回归方程($y=25.66x+0.24$, $R^2=0.999$)。以开始分组处理的时间为0d,测定该天幼苗根、茎、叶中锰的初始含量,以后每5d测1次8 mmol/L处理组油茶幼苗植株上述各器官中的锰含量,持续20d结束。另外,在处理10d时进行所有处理组3个器官的锰含

量测定。所有测定重复3次,取平均值做后续分析。

1.3.2 生理指标 参照张志良等^[15]的方法测定油茶叶片中的超氧化物歧化酶(SOD)与过氧化物酶(POD)活性以及丙二醛(MDA)含量。以开始分组处理的时间为0d,测定该天幼苗根、茎、叶中SOD、POD活性和MDA含量,以后每5d对8 mmol/L处理组进行1次测定,持续20d结束。另外,在处理10d时,测定所有处理油茶叶片中SOD、POD活性和MDA含量。所有测定重复3次,取平均值做后续分析。

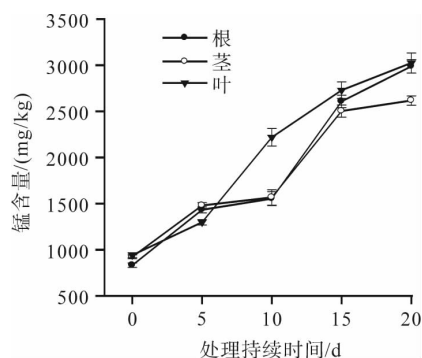
1.4 数据分析

采用Excel 2003、SPSS 19.0以及Sigma plot 10.0等软件进行数据分析、统计学比较以及作图。

2 结果与分析

2.1 8 mmol/L 锰离子条件下油茶幼苗各器官中的锰含量

由图1可以看出,随着处理持续时间的增加,根、茎、叶3个器官中锰含量均逐渐增加。在处理20d内,根、茎、叶中的锰含量分别从初始的831.28、922.34、939.44 mg/kg增加到2987.65、2616.32、3023.99 mg/kg,各器官总增加量表现为根>叶>茎。处理0~5d,根和茎中锰含量的增幅均大于叶;但处理5~15d,叶中锰含量急剧增加,并超过根与茎中的锰含量。

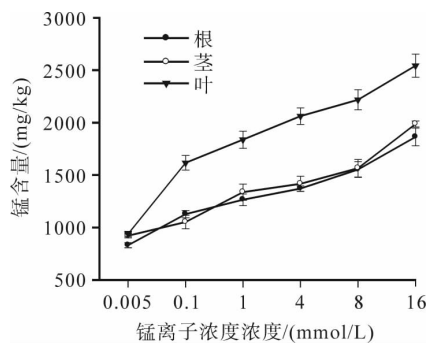


试验中锰离子浓度为8 mmol/L,图3同

图1 油茶幼苗根、茎、叶中的锰含量

2.2 不同锰离子浓度下油茶幼苗各器官中的锰含量

如图2所示,处理10d时,随着营养液中锰离子浓度的增加,油茶幼苗根、茎、叶3个器官中的锰含量均呈增加趋势。当营养液中锰离子浓度从0.1 mmol/L增加到16 mmol/L时,油茶幼苗根中锰含量从1127.59 mg/kg增加到1863.74 g/kg,茎中锰含量则从1052.27 mg/kg增加到1987.06 mg/kg,叶中锰含量从1617.19 mg/kg增加到2542.94 mg/kg。各处理组叶中锰含量均大于根和茎。



测定时间为处理 10 d, 图 4、5 同

图 2 不同锰离子处理浓度下油茶幼苗根、茎、叶中的锰含量

2.3 油茶幼苗叶片中相关生理指标的变化规律

由图 3 可见, 油茶幼苗对锰离子的富集迅速做出响应。在处理 5 d 时, 8 mmol/L 处理组 SOD、POD

活性和 MDA 含量 3 个生理指标均与初始值差异显著 ($P < 0.05$)。SOD 活性在处理前 10 d 快速增加, 之后开始缓慢减弱 (图 3A); POD 活性在处理前 10 d 呈快速增加趋势, 之后急剧降低 (图 3B); MDA 含量则随着处理时间的延长而持续增加, 处理 10 d 后增加速度加快 (图 3C)。

由图 4 可见, 处理 10 d, 当锰离子浓度由 0.005 mmol/L 增加到 8 mmol/L, 油茶幼苗叶片的 SOD、POD 活性随之不断增加; 锰离子浓度超过 8 mmol/L 后, SOD、POD 活性均下降, 但 POD 活性下降急剧而 SOD 活性下降较缓和; MDA 含量随着锰离子浓度的增加呈增加趋势, 且在锰离子浓度 8~16 mmol/L 时增幅最大。

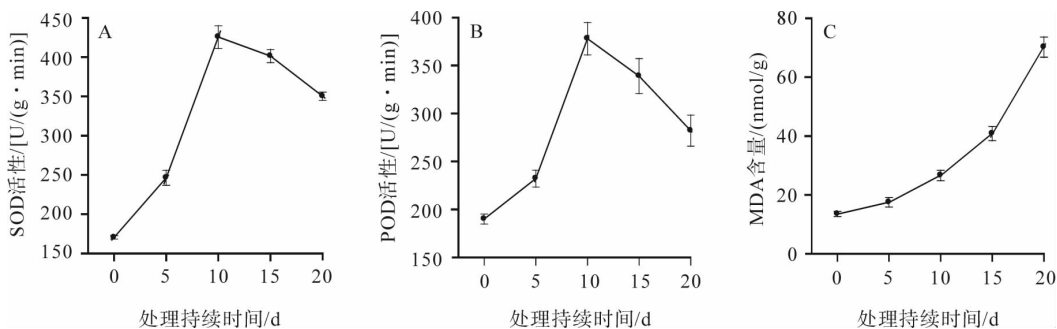


图 3 油茶幼苗叶片的 SOD、POD 活性及 MDA 含量

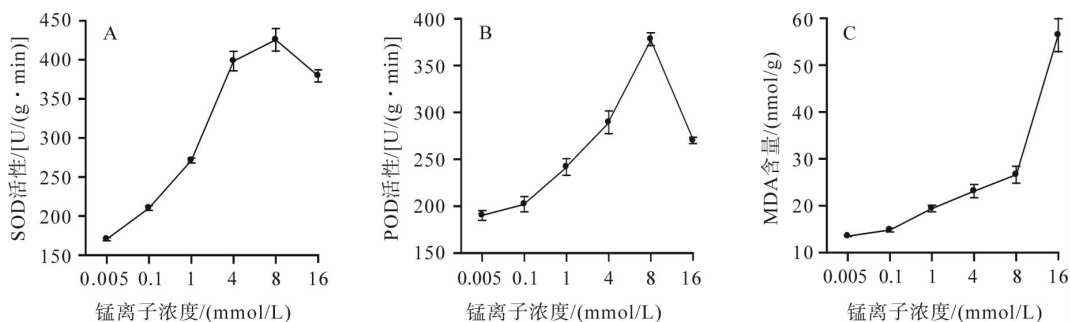


图 4 不同锰离子处理浓度下油茶幼苗叶片的 SOD、POD 活性及 MDA 含量

2.4 油茶幼苗叶片中锰含量变化及其生理响应

为分析锰含量增加与生理响应之间的关系, 把叶片中的上述 SOD、POD 活性及 MDA 含量均除以 CK 初始值得到对应的比值。由图 5 可以看出, 叶片中的锰含量增加激发了一系列生理响应, 但叶片中锰含量处于不同区间时, 响应程度差异明显。如叶片中锰含量低于 1 600 mg/kg 时, 响应较弱; 在 1 600~2 200 mg/kg 时, 响应强烈, 各生理指标大幅增加; 高于 2 200 mg/kg 后, 细胞生理状态出现转折, SOD、POD 活性开始下降, MDA 含量则急剧增加。在整个响应过程中,

SOD 活性变化幅度高于 POD。

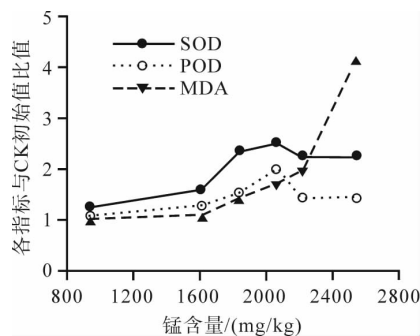


图 5 油茶幼苗叶片中不同锰含量与 SOD、POD 活性及 MDA 含量的关系

3 结论与讨论

人们已经在多种作物上研究了锰离子在植物整体、器官、细胞以及分子等多个水平上发挥的重要作用,特别是近些年重点关注了高浓度锰对植株的毒害效应以及生理机制^[4]。本研究发现,油茶幼苗各器官中锰含量随着处理时间增加而增加,且营养液中锰离子浓度越高,各器官中锰离子富集越多;同时,随着处理时间的延长,根、叶中的锰含量逐渐超过茎,这和常硕其等^[8]在茶树上的研究结果相似。最终叶片中的锰含量最大,可见叶片在油茶幼苗的锰离子储存中发挥着重要作用。植物叶片细胞中的液泡被认为是锰离子极为重要的富集之处,是参与缓解锰胁迫的重要细胞器^[16]。油茶叶片中富集较高含量的锰离子也可能与其液泡的富集作用密不可分。将锰离子富集在对细胞生理功能次要相关的细胞器中这一处理方式,对缓解高锰含量对细胞产生的不利影响有重要意义,但仍需要进一步试验来证明。

作物处于逆境时,细胞会产生大量的有害物质,对细胞特别是膜结构产生损伤,这时细胞需要依赖抗氧化酶系统有效地消除这种负面影响,保护细胞的正常生理活动^[5,17]。本试验发现,随着锰离子在叶片中的富集,SOD、POD 迅速响应,叶片中 MDA 含量(表征细胞受损伤程度的重要指标)的变化规律也证明了这一点。在一定时间(处理 0~5 d)或一定锰离子浓度(0.005~1 mmol/L)条件下,MDA 含量增幅不明显,表明在此阶段锰离子富集对细胞的损伤不明显。但随着锰离子浓度和处理时间的持续增加,MDA 含量急剧增加,而保护酶的活性开始下降,提示此时细胞受到的毒害效应越来越明显。不同浓度与处理时间下油茶幼苗生理响应的差异,实质是由于锰离子富集导致各器官中锰离子含量不同决定的,即锰含量处于不同范围时,细胞处于不同的生理响应状态。分析叶片中的锰含量与生理响应之间的相关性发现,1 600、2 200 mg/kg 是油茶幼苗生理响应的 2 个重要的叶片锰含量临界值。特别需要指出的是,在 SOD、POD 活性随锰离子浓度增加和处理时间延长的动态变化中,SOD 活性响应幅度高于 POD,提示 SOD 在油茶幼苗叶片应对锰离子富集中发挥着更重要的作用,这与陈燕珍等^[18]在商陆上发现的 POD 较 SOD 在抵御锰胁迫时作用更大的结论相反,可能是由于不同植物对同一种金属离子的生理响应存在差异造成的。

综上所述,油茶幼苗对锰离子富集的生理响应

灵敏、迅速,可以在一定程度上抵御锰离子富集对机体的损害,而生理响应的强度与锰离子含量之间密切相关。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] Reichman S M, Menzies N W, Asher C J, *et al.* Seedling responses of four Australian tree species to toxic concentrations of manganese in solution culture[J]. Plant Soil, 2004, 258(1):341-350.
- [3] 张玉秀,李林峰,柴团耀,等. 锰对植物毒害及植物耐锰机理研究进展[J]. 植物学报,2010,45(4):506-520.
- [4] Delhaize E, Gruber B D, Pittman J K, *et al.* A role for the *AtMTP11* gene of *Arabidopsis* in manganese transport and tolerance[J]. Plant J, 2007, 51(2):198-210.
- [5] Marion M, Christoffers F, Braun H P, *et al.* Effect of manganese toxicity on the proteome of the leaf apoplast in cowpea[J]. Plant Physiol, 2003, 133(4):1935-1946.
- [6] 陈国庆,姚发兴,赵丹. 锰胁迫对美洲商陆幼苗抗氧化酶系统的影响[J]. 湖北师范学院学报,2011,31(1):58-60.
- [7] 梁文斌,薛生国,沈吉红,等. 锰胁迫对垂序商陆叶片形态结构及叶绿体超微结构的影响[J]. 生态学报,2011,31(13):3677-3683.
- [8] 常硕其,彭克勤,张亚莲,等. 加锰处理对茶树锰含量及生理变化的影响研究[J]. 茶叶科学,2008,28(5):331-338.
- [9] 段海风,刘四喜,郭志强. 锰胁迫对商陆生长和吸收钙、镁、铁、锌二价离子的影响[J]. 湖南农业科学,2012(19):71-74.
- [10] 黄永杰,刘登义,王友保,等. 八种水生植物对重金属富集能力的比较研究[J]. 生态学杂志,2006,25(5):541-545.
- [11] 黄朝表,郭水良,陈旭敏,等. 金华地区 11 种杂草对 4 种重金属的吸收与富集作用研究[J]. 农业环境保护,2001,20(4):225-228.
- [12] 刘燕,谢阿娜. 三叶草对重金属镉的富集特性研究[J]. 河南农业科学,2011,40(1):82-84.
- [13] 徐向华,施积炎,陈新才. 锰在商陆叶片的细胞分布及化学形态分析[J]. 农业环境科学学报,2008,27(2):515-520.
- [14] 王静,孙合美,谷巍,等. 分光光度法测定有机物中锰含量[J]. 中国粮油学报,2010,25(5):5-7.
- [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.
- [16] Baldissertotto C, Ferroni L, Anfuso E, *et al.* Responses of *Trapa natans* L. floating laminae to high concentrations of manganese[J]. Protoplasma, 2007, 231(1/2):65-82.
- [17] 张玉秀,黄智博,张红梅,等. 商陆和烟草对锰胁迫的抗氧化响应研究[J]. 环境科学,2009,30(12):3676-3683.
- [18] 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.