

国春晖,沙 伟,李孝凯. 3 种藓类植物旱后复水过程中生理特性的初探[J]. 江苏农业科学,2014,42(9):329-332.

3 种藓类植物旱后复水过程中生理特性的初探

国春晖,沙 伟,李孝凯

(齐齐哈尔大学生命科学与农林学院遗传工程重点实验室,黑龙江齐齐哈尔 161006)

摘要:以长期硅胶干旱的东亚砂藓(*Racomitrium japonicum* Dozy & Molk)、毛尖紫萼藓(*Grimmia pilifera* P. Beauv.) 和山墙藓(*Tortula ruralis* Gaertn) 3 种藓类植物为材料,选取不同的时间梯度分别进行复水处理,测定相对水分含量、丙二醛含量、游离脯氨酸含量、可溶性蛋白量、可溶性糖含量、过氧化物酶活性等 6 项生理指标。结果表明,东亚砂藓的渗透调节物质修复-补偿能力较强,毛尖紫萼藓的抗氧化修复能力较强,山墙藓的保水能力较强;试验中所测的 6 种生理指标从一定程度上反映出 3 种藓类植物具有不同于其他植物的特殊抗旱生理机制。

关键词:东亚砂藓;毛尖紫萼藓;山墙藓;复水;抗旱生理特性

中图分类号: Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)09-0329-03

水分是影响植物生长的主要因素之一,水分的亏缺对植物生长发育的影响远远超过盐胁迫和重金属胁迫,具体表现在植物的相对水分含量下降、可溶性糖含量积累等诸多方面^[1]。因此,对植物水分胁迫的研究多集中在干旱时期,而对胁迫后复水时期的研究则不是很多,且研究大多集中在植物体处于干旱状态的生理特征和生化机制方面^[2-4],很少关注植物体在复水过程中的生理生化变化。研究植物体在旱后复水的生理特征的变化能够较为全面地诠释植物的伤害-修复-补偿的生理生化机制^[5-6],同时为其他生物学领域提供宝贵的植物学理论基础。苔藓植物是一种最简单、最原始的高等植物,植物体体型微小,内部结构简单,缺乏维管组织,没有根系系统和内部传导系统的分化,但却具有较强的耐旱能力^[7]。国外对苔藓的干旱生理响应和抗旱机理的研究源于 20 世纪 70 年代,并对不同的苔藓进行了较为详实的比较研究,已经深入到分子水平^[8-10],而国内对于苔藓植物这方面的研究尚处于起步阶段,关于旱后复水的研究较为少见^[11]。本研究通过对硅胶干旱处理的东亚砂藓(*Racomitrium japonicum* Dozy & Molk)、毛尖紫萼藓(*Grimmia pilifera* P. Beauv.) 和山墙藓(*Tortula ruralis* Gaertn) 进行复水处理,研究其生理特征变化,综合评价这 3 种植物的伤害-修复-补偿能力。

1 材料与方法

1.1 试验材料

东亚砂藓和毛尖紫萼藓采集于五大连池老黑山石龙岩石上、山墙藓采集于内蒙古白音敖包沙地云杉下。标本保存于齐齐哈尔大学生命科学与农林学院遗传工程重点实验室。

1.2 试验方法

1.2.1 旱后复水处理方法

对采集后的东亚砂藓、毛尖紫萼

藓和山墙藓植物用硅胶干燥处理半年以上,选取干旱水平一致的材料进行复水处理,浇灌足量的去离子水,3 min 内即可吸水饱和,用滤纸拭去表面水分,分别转入 3 组玻璃培养皿中,用停表开始计时,以便在不同的时间点进行取材。

1.2.2 试验取材 在复水处理 0.5 h、8 h、1 d、3 d、5 d、7 d、10 d 后,分别选取每组材料中长势一致的茎叶材料 3 份,每份净质量 0.3 g,备用。

1.2.3 测定方法 丙二醛含量采用硫代巴比妥酸法^[12],过氧化物酶活性的测定采用愈创木酚法^[13],游离脯氨酸含量的测定采用磺基水杨酸法^[14],可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝(Bradford) G250 结合法^[15],可溶性总糖的测定采用蒽酮比色法^[16],相对水分含量用水势测定仪测定。

1.2.4 试验数据处理 所有生理指标均重复测 3 次,选取相应数据取平均值。采用 SPSS 20.0 进行数据分析及单因素方差分析,用 Excel 2007 作图。

2 结果与分析

2.1 旱后复水对 3 种藓类的相对水分含量的影响

相对水分含量(relative water content, RWC) 常被用来衡量植物在受到水分胁迫的伤害程度,是植物旱后复水的直接生理指标之一。旱后复水处理后的 3 种藓类的 RWC 变化趋势如图 1 所示。在复水之前,3 种藓类的相对水分含量处于极低水平(RWC < 5%);在复水之后,3 种藓类的相对水分含量恢复到较高水平(RWC > 75%);随着复水天数的增加,3 种藓类的相对水分含量略有下降。东亚砂藓和毛尖紫萼藓在复水 10 d 之后,仍能维持一定的水分含量(RWC ≥ 35%),山墙藓则维持在中等水平(RWC ≥ 55%),3 种均高于自然生境干旱水平(RWC = 20%)。

2.2 旱后复水对 3 种藓类的丙二醛含量的影响

丙二醛(malondialdehyde, MDA) 常被用来衡量植物细胞内膜脂过氧化程度,是反映膜系统受损程度的重要指标^[17]。在干旱时期,3 种藓类的 MDA 含量都处于较高水平(> 0.6 μmol/g),而在复水之后,1 d 之内 MDA 均表现出先下降后上升的趋势,在 1~5 d 则表现出下降的趋势,7 d 之后略有升高(图 2)。方差分析表明,东亚砂藓处理之间差异

收稿日期:2013-12-13

基金项目:国家自然科学基金(编号:31070180、31270254)。

作者简介:国春晖(1988—),男,黑龙江齐齐哈尔人,硕士研究生,主要从事植物学生理生化研究。E-mail:guochunhui88@163.com。

通信作者:沙伟,教授,博士生导师,主要从事植物学、植物遗传学方面的研究。E-mail:shw1129@263.net。

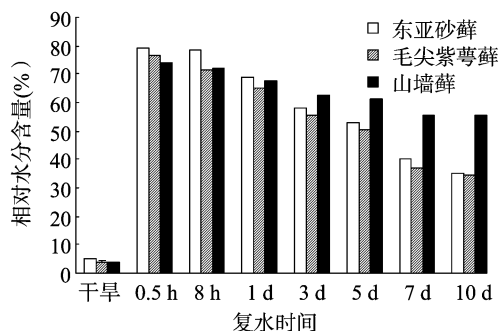


图1 旱后复水对3种藓类的相对水分含量的影响

极显著 ($F = 10.363, P < 0.01$), 毛尖紫萼藓处理之间差异显著 ($F = 3.528, P < 0.05$), 山墙藓处理之间差异极显著 ($F = 12.596, P < 0.01$)。

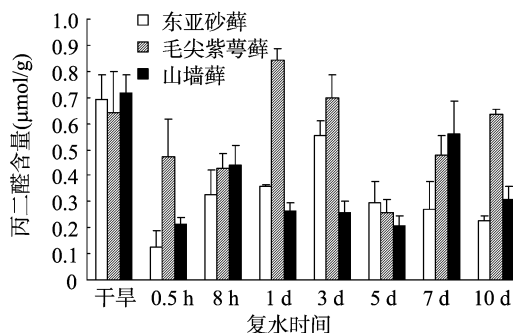


图2 旱后复水对3种藓类的丙二醛含量的影响

2.3 旱后复水对3种藓类的过氧化物酶活性的影响

过氧化物酶 (peroxidase, POD) 是植物的重要氧化还原酶,具有消除过氧化氢和酚类、胺类毒性的双重作用,是植物修复机制的主要反应^[18]。在复水之前,3种藓类的 POD 活性均处于较低的水平 ($POD < 10 U$);在复水之后,东亚砂藓和毛尖紫萼藓在 8 h 之前,呈现上升趋势,山墙藓则在 1 d 之前呈现上升趋势;东亚砂藓和山墙藓类在 1 d 之后,POD 活性呈现基本平稳的状态,而毛尖紫萼藓则在 7 d 之后有所上升 (图 3)。方差分析表明,东亚砂藓处理之间差异极显著 ($F = 24.509, P < 0.01$),毛尖紫萼藓处理之间差异极显著 ($F = 44.945, P < 0.01$),山墙藓处理之间差异极显著 ($F = 8.710, P < 0.01$)。

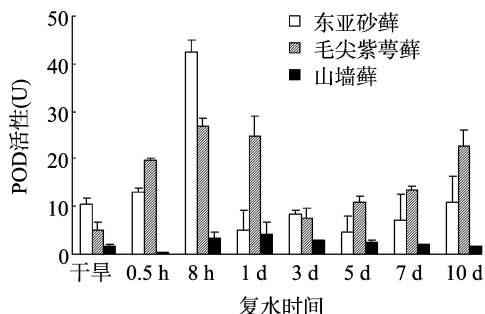


图3 旱后复水对3种藓类的过氧化物酶活性的影响

2.4 旱后复水对3种藓类的游离脯氨酸含量的影响

游离脯氨酸 (proline, Pro) 广泛分布于植物体内,在稳定细胞大分子结构、降低细胞酸性、解除氨毒以及作为能量库渗透调节细胞氧化还原势等方面起重要作用^[19]。复水之前,东

亚砂藓和毛尖紫萼藓的游离脯氨酸含量较低,分别为 3.63、6.73 $\mu g/g$;山墙藓的含量则较高,为 18.41 $\mu g/g$ 。复水过程中,东亚砂藓和毛尖紫萼藓的游离脯氨酸含量显著上升,在复水后 8 h 时均达到干旱对照组的 3 倍左右;东亚砂藓的最大值出现在复水后 3 d,是干旱对照组的 6.7 倍;毛尖紫萼藓的含量在复水 1 d 以后降低并趋于平稳;山墙藓的含量则在复水之后明显下降,只有在 8 h ~ 1 d 时间段出现了 3.7 $\mu g/g$ 左右的较高值,3 d 以后含量则趋于平稳,7 d 含量最低,仅为 0.523 9 $\mu g/g$ (图 4)。方差分析表明,东亚砂藓处理之间差异极显著 ($F = 29.292, P < 0.01$),毛尖紫萼藓处理之间差异极显著 ($F = 13.789, P < 0.01$),山墙藓处理之间差异极显著 ($F = 5.400, P < 0.01$)。

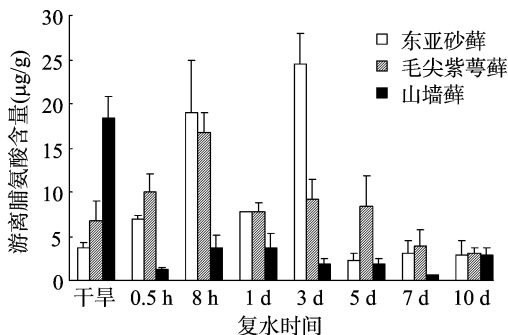


图4 旱后复水对3种藓类的游离脯氨酸含量的影响

2.5 旱后复水对3种藓类的可溶性蛋白含量的影响

可溶性蛋白是植物体内可以小分子状态溶于水的蛋白,其中某些功能蛋白数量的提高,会直接增加细胞渗透浓度,有助于维持细胞正常代谢^[20]。复水之前,3种藓类的可溶性蛋白含量都处于高位;复水之后,3种藓类的可溶性蛋白含量都有所下降,其中在复水 3 d 时,东亚砂藓和毛尖紫萼藓出现了最低值,分别为 13.57、11.23 $\mu g/g$,而山墙藓则出现了最高值 38.73 $\mu g/g$ (图 5)。方差分析表明,东亚砂藓处理之间差异显著 ($F = 4.075, P < 0.05$),毛尖紫萼藓处理之间差异显著 ($F = 4.351, P < 0.05$),山墙藓处理之间差异显著 ($F = 3.970, P < 0.05$)。

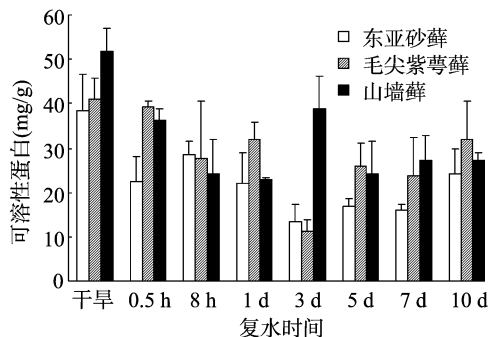


图5 旱后复水对3种藓类的可溶性蛋白含量的影响

2.6 旱后复水对3种藓类的可溶性总糖含量的影响

可溶性总糖是植物体内重要的能量储存、转移介质,结构物质和功能分子,对于维持细胞的膨压,调节细胞膜内外渗透势,稳定细胞质膜结构有着重要作用^[21]。复水之前,3种藓类的可溶性糖含量均处于较高水平,其中东亚砂藓和毛尖紫萼藓处于 400 ~ 500 $\mu g/g$ 水平,山墙藓处于 200 $\mu g/g$ 水平;复

水之后,东亚砂藓在 0.5 h 出现了超过干旱对照组的最高值,为 435.84 $\mu\text{g/g}$,毛尖紫萼藓和山墙藓则均低于干旱对照组(图 6)。方差分析表明,东亚砂藓处理之间差异极显著($F = 8.250, P < 0.01$),毛尖紫萼藓处理之间差异极显著($F = 17.917, P < 0.01$),山墙藓处理之间差异极显著($F = 53.920, P < 0.01$)。

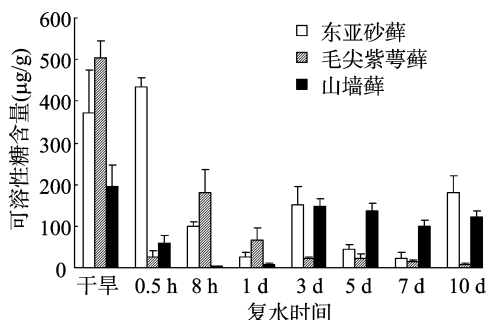


图6 旱后复水对3种藓类的可溶性糖含量的影响

3 讨论与结论

在多种植物的复水研究中显示,相对水分含量是最直接反映植物在胁迫之后的修复水平指标^[22-24]。本研究表明,在复水之后,3种藓类都能迅速地吸收水分,达到75%水平的高含量;在复水1 d之后,发现山墙藓的保水能力强于另外2种藓类,东亚砂藓和毛尖紫萼藓之间无明显差异。

丙二醛作为 O_2^- 引发的膜脂过氧化的最终产物,是一种具有细胞毒性的物质,能与膜结构上的蛋白质和酶结合、交联而使之失去活性,从而破坏膜结构^[25];因此,丙二醛是反映细胞膜脂过氧化作用强弱和质膜破坏程度的重要指标,也是反映干旱胁迫对植物造成伤害的重要参数。当细胞受到干旱胁迫时,细胞膜发生氧化分解,丙二醛大量积累,复水后,丙二醛含量会随之发生改变^[26]。本研究表明,长时间干旱胁迫加速了这3种藓类植物叶片的老化,使得植物体内清除氧自由基的平衡遭到严重破坏,从而使丙二醛迅速积累。在复水过程中,东亚砂藓丙二醛的含量表现为先急剧下降,而后逐渐上升并趋稳的趋势;毛尖紫萼藓始终处于波动状态;山墙藓在急剧下降后直接趋于平稳。东亚砂藓和山墙藓在复水后,表现出对胁迫很明显的补偿效应;毛尖紫萼藓在复水1、3 d表现出高于干旱对照组的峰值,这可能是由于在长时间重度干旱胁迫的前提下, O_2^- 大量积累于毛尖紫萼藓植物体内不能及时去除,导致去 O_2^- 过程中丙二醛积累过多所致。毛尖紫萼藓和另外2种藓类的抗氧化修复机制有着明显的差异。

POD 是植物体内去除 O_2^- 自由基的重要保护酶,植物体在受到外界不利环境的胁迫和良好的环境改善的修复-补偿过程中,其含量都会发生明显变化,其含量的升高与 O_2^- 自由基的积累成正比^[27]。本研究表明,长时间的干旱胁迫抑制了3种藓类植物的酶活性,打破 POD 调节细胞内氧化-还原的平衡体系,加速植物细胞的衰老;在复水之后,POD 活性迅速升高,东亚砂藓和毛尖紫萼藓在8 h时达到极高活性,山墙藓在1 d左右达到高活性,这说明这3种藓类植物在不同的复水时期均表现出重构氧化-还原的平衡体系,是对重度干旱的必要的修复和补偿。从旱后复水时间周期上看,毛尖紫

萼藓的 POD 活性均高于同期其他2种藓类,说明毛尖紫萼藓在正常生长时期的抗氧化能力要比另外2种藓类植物强。

脯氨酸是植物蛋白质的主要组成部分,当植物受到干旱胁迫时,Pro 可作为渗透剂参与植物的渗透调节作用,因此,干旱胁迫会导致植物体内 Pro 含量积累增加^[28]。本研究表明,长时间的干旱胁迫之后,东亚砂藓和毛尖紫萼藓的 Pro 含量较低,山墙藓 Pro 含量较高;在复水之后,短周期内东亚砂藓和毛尖紫萼藓明显出现补偿机制,山墙藓则出现了特殊的“反补偿”趋势。在较长复水周期里,东亚砂藓的 Pro 含量变化较另外2种植物明显,这说明其与另外2种藓类的修复-补偿过程有差异。

可溶性蛋白和可溶性糖都是植物体内重要的渗透调节物质,2者之间有动态转换的关系。2者的大量积累,可以降低细胞的渗透势,从而抵御外界干旱对植物体的伤害,维持植物的新陈代谢^[29]。本研究表明,长时间的干旱胁迫之后,3种藓类植物的这2种渗透调节物质都有大量的积累,其中山墙藓的可溶性蛋白积累最多,可溶性糖积累较少,符合2种渗透调节物质的互补性调节关系;在复水之后,除了东亚砂藓的可溶性糖在0.5 h出现了“补偿”现象外,其他时期3种藓类植物的2种渗透调节物质均表现出下降的趋势,这与渗透调节物质的积累与吸水程度成反比相符。

通过伤害-修复-补偿这个过程,综合评价这3种藓类植物,东亚砂藓的渗透调节物质的修复-补偿能力强于毛尖紫萼藓和山墙藓,毛尖紫萼藓的抗氧化修复能力强于东亚砂藓和山墙藓,山墙藓的保水能力强于东亚砂藓和毛尖紫萼藓。

参考文献:

- [1] 王智威,牟思维,闫丽丽,等. 水分胁迫对春播玉米苗期生长及其生理生化特性的影响[J]. 西北植物学报,2013,33(2):343-351.
- [2] 赵和文,崔金腾,王杰,等. 干旱胁迫下常春藤响应的生理生化机制[J]. 中国农学通报,2013,29(7):12-19.
- [3] 丁玉梅,马龙海,周晓罡,等. 干旱胁迫下马铃薯叶片脯氨酸、丙二醛含量变化及与耐旱性的相关性分析[J]. 西南农业学报,2013,01(1):106-110.
- [4] 何玮,蒋安,王琳,等. PEG 干旱胁迫对红三叶抗性生理生化指标的影响研究[J]. 中国农学通报,2013,29(5):5-10.
- [5] 余莉琳,裴宗平,常晓华,等. 干旱胁迫及复水对4种矿区生态修复草本植物生理特性的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(7):362-364.
- [6] 曹让,梁宗锁,吴洁云,等. 干旱胁迫及复水对棉花叶片氮代谢的影响[J]. 核农学报,2013(2):231-239.
- [7] 郑云普,赵建成,张丙昌,等. 荒漠生物结皮中藻类和苔藓植物研究进展[J]. 植物学报,2009,44(3):371-378.
- [8] Stark L R, Oliver M J, Mishler B D, et al. Generational differences in response to desiccation stress in the desert moss *Tortula inermis* [J]. Annals of Botany, 2007, 99(1):53-60.
- [9] Hajek T, Beckett R P. Effect of water content components on desiccation and recovery in *Sphagnum* mosses [J]. Annals of Botany, 2008, 101(1):165-173.
- [10] Oldenhof H, Wolkers W F, Bowman J L, et al. Freezing and desiccation to lence in the moss *Physcomitrella patens*; an *in situ* fourier transform in frared spectroscopic study [J]. Biochem Biophys Acta, 2006, 1760:1226-1234.

翟 缘, 张雁秋, 李 燕. 厌氧/缺氧环境驯化短程反硝化聚磷菌[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(9): 332–334.

厌氧/缺氧环境驯化短程反硝化聚磷菌

翟 缘, 张雁秋, 李 燕

(中国矿业大学环境与测绘学院, 江苏徐州 221116)

摘要:以污水处理厂二沉池活性污泥为种泥, 采用直接加药和厌氧/缺氧交替运行的驯化方式驯化 46 d, 使得缺氧脱氮率、除磷率分别稳定在 95%、93% 以上。试验结果表明, 磷的吸收量和亚硝酸盐的消耗量基本呈线性关系, 可以认为系统完成了污泥的驯化, 经测试表明, 短程反硝化聚磷菌占全部聚磷菌的 75%。

关键词:短程反硝化聚磷菌; 厌氧/缺氧; 驯化; 污泥

中图分类号: Q939.97; X703 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002–1302(2014)09–0332–03

作为一种新型的高效低能耗的生物脱氮除磷技术, 反硝化除磷技术在近年来已成为水处理研究领域的热点^[1–2]。反硝化除磷是指聚磷菌 (phosphorus accumulation organisms, PAO) 能在缺氧的条件下利用 NO_3^- 作为吸磷的电子受体, 此时聚磷菌体内的聚羟基脂肪酸酯 (polyhydroxyalkanoates, PHA) 并不在传统的好氧吸磷过程中被 O_2 氧化去除, 而是作为 NO_3^- 反硝化的碳源, 从而实现了脱氮除磷过程的耦合^[3–4]。与传统的好氧聚磷菌相比, 利用反硝化聚磷菌 (denitrifying phosphorus accumulation organisms, DPAO) 除磷可

以减少 50% 的化学需氧量 (COD) 需求和 30% 的 O_2 消耗, 从而实现“一碳两用”, 同时可以减少 50% 的剩余污泥^[5–6]。相关研究表明, 反硝化过程一般都要产生中间产物亚硝酸盐, 甚至在某些试验的反硝化过程中会出现一定浓度亚硝酸盐的积累, 并且亚硝酸盐可以作为反硝化聚磷菌的电子受体^[7–8]。本研究采用在密闭系统中直接厌氧/缺氧驯化的方法, 经过 1.5 个月的培养, 成功驯化出了短程反硝化聚磷菌。

1 材料与方法

1.1 设备与试剂

试验采用 SBR (sequencing batch reactor activated sludge process) 反应器, 高 60 cm, 直径 30 cm, 总有效容积 10 L, 为有机玻璃材质。设备装配有电磁搅拌器, 可使污泥在厌氧/缺氧阶段处于悬浮状态。为了保证试验污泥的绝对厌氧环境, 本试验创新性地采用直接投加药品到污泥中的方法, 避免了在

收稿日期: 2013–12–20

作者简介: 翟 缘 (1989—), 江苏徐州人, 硕士研究生, 主要从事废水处理的研究。E-mail: 674769387@qq.com。

通信作者: 张雁秋, 教授, 主要从事废水处理的研究。E-mail: yqzhang@cumt.edu.cn。

[11] 沙 伟, 王 欢, 师 帅. 旱后复水对东亚砂藜生理生化指标的影响[J]. 武汉植物学研究, 2010, 28(2): 246–249.

[12] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会. 现代植物生理实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 128–145.

[13] 李忠光, 龚 明. 愈创木酚法测定植物过氧化物酶活性的改进[J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(2): 323–324.

[14] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安: 世界图书出版社, 2000: 11–26.

[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] 张 蕾. 生物化学实验指导[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 2011.

[17] 高丽萍, 夏 涛, 张鹤英. 猕猴桃衰老中膜脂过氧化指标——丙二醛的研究[J]. 安徽农业大学学报, 2000, 27(2): 154–156.

[18] 冯义平, 毛 亮, 董仕鹏, 等. 过氧化物酶催化去除水体中酚类内分泌干扰物的研究进展[J]. 环境化学, 2013, 7(7): 1218–1225.

[19] 陈玉胜. 外源谷胱甘肽对大豆种子萌发过程中铜毒害的缓解效应[J]. 大豆科学, 2012, 31(2): 247–251.

[20] Zang Z C. Plant physiology and molecular biology[M]. Beijing: Science Press, 1999: 739–751.

[21] 林武星, 黄雍容, 聂 森, 等. 盐胁迫对台湾海桐幼苗营养吸收和可溶性总糖含量的影响[J]. 西南林业大学学报, 2013, 4(2): 1–5.

[22] 裴 斌, 张光灿, 张淑勇, 等. 土壤干旱胁迫对沙棘叶片光合作用和抗氧化酶活性的影响[J]. 生态学报, 2013(5): 1386–1396.

[23] 鲁建荣, 李向义, 薛 伟, 等. 两种荒漠植物叶片脱水水分生理和 PS II 活性特征[J]. 西北植物学报, 2013, 33(7): 1427–1434.

[24] 薛惠云, 张永江, 刘连涛, 等. 干旱胁迫与复水对棉花叶片光谱、光合和荧光参数的影响[J]. 中国农业科学, 2013, 46(11): 2386–2393.

[25] 陶 晶, 陈士刚, 秦彩云, 等. 盐碱胁迫对杨树各品种丙二醛及保护酶活性的影响[J]. 东北林业大学学报, 2005, 33(3): 13–15, 37.

[26] 严美玲, 李向东, 林英杰, 等. 苗期干旱胁迫对不同抗旱花生品种生理特性、产量和品质的影响[J]. 作物学报, 2007, 33(1): 113–119.

[27] 杨淑慎, 高俊凤. 活性氧、自由基与植物的衰老[J]. 西北植物学报, 2001, 21(2): 215–220.

[28] 吴银明, 王 平, 刘洪升, 等. 分根 PEG 胁迫对羊草幼苗植物量、活性氧代谢及脯氨酸含量的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2008, 43(2): 114–119.

[29] 闫洪奎, 刘 祥, 王会广, 等. 低钾胁迫下耐低钾玉米可溶性蛋白、可溶性糖和钾含量的变化及其关系[J]. 玉米科学, 2012, 20(6): 81–84.