

陈莹,钟理,赵丽丽,等.截叶铁扫帚种子萌发期对岩溶生境高钙干旱的生理生化反应[J].江苏农业科学,2014,42(9):335-339.

截叶铁扫帚种子萌发期对岩溶生境高钙干旱的生理生化反应

陈莹¹,钟理¹,赵丽丽²,王普昶¹,莫本田¹,龙忠富¹

(1. 贵州省草业研究所,贵州贵阳 550006; 2. 贵州大学动物科学学院,贵州贵阳 550025)

摘要:中国西南岩溶地区生态脆弱,石漠化问题严重,高钙干旱生境是限制该地区植被恢复与重建的最主要因素。为了探讨岩溶地区乡土灌木对岩溶生境高钙干旱环境的适应方式,本试验分析了不同强度钙盐(0、10、50、100、150 mmol/L)、不同强度干旱(CK、5% PEG、10% PEG、15% PEG)胁迫及它们的交互作用下铁扫帚种子萌发期的生理生化指标变化。结果表明,随着 PEG 浓度的增大,SOD(超氧化物歧化酶)活性呈对数函数变化($P < 0.05$),POD(过氧化物酶)活性呈指数函数变化($P < 0.01$),CAT(过氧化氢酶)活性呈对数函数变化($P < 0.01$),GSH(谷胱甘肽)和可溶性蛋白含量呈二次曲线变化,表明 SOD、POD、CAT、GSH 和可溶性蛋白质含量均能够较好地指示干旱胁迫对种子萌发期的生理生化伤害程度;随着 Ca^{2+} 浓度的增大,SOD 活性呈线性下降趋势($P < 0.01$),POD 活性呈指数函数变化($P < 0.01$),CAT 活性无明显规律,GSH 含量呈现对数函数变化($P < 0.01$),可溶性蛋白呈二次曲线变化($P < 0.01$),表明 SOD、POD、GSH 和可溶性蛋白质含量均能够较好地指示钙盐胁迫对种子萌发期的生理生化伤害程度,但 CAT 活性则无法指示;交互作用分析表明中高浓度钙可增强截叶铁扫帚对中度干旱的忍耐性,轻度干旱可增强其对中高浓度钙的忍耐性,重度干旱可增强其对中高浓度钙的忍耐性。说明截叶铁扫帚在长期的干旱富钙环境中,通过高钙干旱交互增效作用来提高其对环境适应性。

关键词: Ca^{2+} 胁迫;干旱胁迫;铁扫帚;生理指标;环境适应性

中图分类号: Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)09-0335-05

中国西南岩溶地区面积达 50 多万 km^2 ,是全球岩溶集中分布区面积最大、岩溶发育最强烈、景观类型复杂、生物多样性丰富、生态系统极为脆弱的典型地区^[1]。西南岩溶地区广泛分布着以石灰土为主的非地带性土壤,因基岩多为碳酸盐(CaCO_3)等可溶性盐类而具富钙特征^[2-4]。同时,由于岩溶土层浅薄和岩石的高渗透性,使其土壤持水能力差,土壤频繁干旱。因此,干旱和高钙已成为岩溶地区鲜明的生境特征,同时也成为影响该地区植物生理特征及分布情况的重要环境因素之一^[5]。

针对植物物种对干旱、高钙逆境的生存差异,国内外学者开展了较多研究。关于干旱胁迫对植物的影响一直是国内外学者研究的热点,并已有了深入的研究^[6-10]。关于高钙胁迫对植物的影响近年来成为学者研究的热点,如刘明久等研究了钙对小麦种子活力的影响,发现低浓度的钙离子提高小麦种子发芽率及种子活力的原因之一是其提高了种子淀粉酶的活力,高浓度则对其有抑制作用^[11]。陈健等研究发现,低浓度的钙离子对玉米种子的发芽率和活力均有提高作用,随着

浓度升高作用减弱^[12]。张显强研究了伞花木和大白杜鹃在不同 Ca^{2+} 浓度下的生长情况,发现高浓度促进伞花木的生长,对大白杜鹃的生长却有抑制作用^[13];当外源 Ca^{2+} 浓度低于 20 mmol/L 时,2 个树种的 POD 活性随着时间的延长不断提高。张宇斌等比较研究了云贵鹅耳枥和油茶在不同钙浓度下 POD 活性变化,发现当外源 Ca^{2+} 浓度低于 20 mmol/L 时,2 个树种的 POD 活性随着时间延长不断提高,当外源 Ca^{2+} 浓度高于 20 mmol/L 后,2 个树种的 POD 活性变化出现显著差异^[14]。张习敏比较研究了云贵鹅耳枥和油茶在高钙处理下细胞内 Ca^{2+} 定位变化情况,发现与云贵鹅耳枥相比,油茶的细胞器更容易受高浓度 Ca^{2+} 的破坏^[15]。目前关于植物高钙、干旱适应机制的研究主要集中在外源钙提高植物抗旱性方面,而关于植物对高钙、干旱适应的互作机制还鲜有报道。

西南岩溶地区属亚热带气候,太阳辐射能量较高,降水充沛,水热条件匹配,其地带性植被为常绿阔叶林^[16]。但由于地质运动、气候水文因素和人为多种形式的干扰、破坏和不合理使用,使得森林植被消失,灌木植物优势相对突出,形成了以适应嗜钙性、耐旱性和石生性特征强的灌木林^[17]。灌丛植被已成为西南喀斯特地区最具代表性亦最普遍的植被类型^[18],也是该区石漠化治理的重要物种。截叶铁扫帚(*Kochia scoparia*)为豆科胡枝子属多年生小灌木,是西南岩溶地区广泛分布的乡土灌木之一,由于其具有突出的耐干旱、耐贫瘠、耐火烧、耐践踏、耐刈割等生态特性,而成为该区石漠化植被恢复过程的先锋物种。基于此,本试验选取岩溶地区乡土灌木截叶铁扫帚为研究对象,分析其种子萌发期对钙盐、干旱及交互作用的生理响应,以期理解岩溶地区乡土灌木对

收稿日期:2014-01-24

基金项目:国家自然科学基金(编号:31260572);贵州省农业攻关(编号:黔科合 NY 字[2010]3045 号);贵州省自然科学基金(编号:黔科合 J 字[2012]2198);贵州省农业科学院基金(编号:黔农科合(基金)2010023)。

作者简介:陈莹,女,贵州独山人,研究实习员,主要从事草地植物生理生态研究。E-mail:cy860803@163.com。

通作作者:钟理,硕士,助理研究员,主要从事作物遗传育种及生理生态研究。E-mail:zhongliyicy@126.com。

干旱高钙环境的适应机理和岩溶退化生态系统植被恢复过程中物种配置提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 培养试验

本试验采用贵州本地截叶铁扫帚种子,于 2012 年 4 月在贵州省草业研究所进行培养。挑选籽粒饱满、大小一致的铁扫帚种子,用 0.1% 高锰酸钾消毒 15 min,用蒸馏水清洗数遍,待洗净后用蒸馏水浸种 1 h。

1.2 高钙与干旱处理

1.2.1 Ca 盐胁迫处理 配制 0、10、50、100、150 mmol/L 的 CaCl₂ 溶液,每个培养皿选取 60 粒健康饱满的种子,放入恒温培养箱中进行培养,每个处理 3 次重复,每日定时定量浇水,出芽后选取长势一致的健康种子进行试验。

1.2.2 PEG-6000 设置对照、轻度、中度、重度 4 个干旱程度,分别对应 0%、5%、10%、20% PEG-6000,配制完成后放入培养皿中,每个培养皿选取 60 粒健康饱满的种子,每个处理 3 次重复,种子培养方法同上。

1.2.3 交叉胁迫处理 处理如表 1(T1 表示 T_{p5×Ca10},即 5% PEG 与 10 mmol/L Ca 交叉胁迫处理,其余类推),种子培养方法同上。

表 1 试验交叉处理

PEG (%)	Ca (mmol/L)			
	10	50	100	150
5	T1	T2	T3	T4
10	T5	T6	T7	T8
15	T9	T10	T11	T12

1.3 粗酶液的制备

称取不同处理的铁扫帚种苗各 0.5 g,用蒸馏水洗净,加入预冷的提取液 9 mL,冰浴充分研磨,以 10 000 r/min 冷冻离心 20 min,取上清液装入编号好的收集管中,放入 -20 ℃ 冰箱冷藏备用。

1.4 生理指标的测定

超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用氮蓝四唑光还原法^[19];可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法;过氧化物酶(POD)活性的测定以每分钟吸光度(D_{470 nm})变化 0.01 为 1 个活力单位;过氧化氢酶(CAT)的活性以每 1 min 分解 1 μmol 的过氧化氢为 1 个 CAT 活性单位;谷胱甘肽(GSH)含量测定按刘萍等的方法^[20]。以上指标均用紫外分光光度计测定。

1.5 统计方法

数据的分析与处理采用 Excel 软件,方差分析与显著性检验采用 SPSS 软件。

2 结果与分析

2.1 不同 PEG 浓度下种子萌发期生理指标变化

不同 PEG 浓度下截叶铁扫帚种子萌发期生理指标变化如图 1 所示。SOD 活性随 PEG 浓度的增大呈对数函数变化趋势($P<0.05$),POD 活性随 PEG 浓度的增大呈指数函数变化趋势($P<0.01$),而 CAT 活性随 PEG 浓度的增大呈对数函数变化趋势($P<0.01$),说明随干旱胁迫强度的增强,截叶铁扫帚

体内的抗氧化酶系统被激活,使这 3 种保护酶活性上升。GSH 和可溶性蛋白含量随 PEG 浓度增大的变化幅度不大,呈现正二次曲线变化趋势,即在轻度干旱(5% PEG)胁迫下,能刺激植物体内产生较多的 GSH 和可溶性蛋白,随着干旱程度加深,GSH 和可溶性蛋白的含量受到抑制。不同 PEG 浓度下截叶铁扫帚种子萌发期生理指标变化综合分析表明,SOD、POD、CAT、GSH 和可溶性蛋白质含量均能够较好地指示干旱胁迫对种子萌发期的生理生化伤害程度,同时 GSH 和可溶性蛋白质含量还可以反映萌发期种子开始受胁迫伤害的干旱水平。

2.2 不同 Ca²⁺ 浓度下种子萌发期生理指标变化

不同 Ca²⁺ 浓度下截叶铁扫帚种子萌发期生理指标变化见图 2。SOD 活性随 Ca²⁺ 浓度的增大呈线性下降趋势($P<0.01$),POD 活性随 Ca²⁺ 浓度的增大呈指数函数变化趋势($P<0.01$),CAT 活性随着 Ca²⁺ 浓度的增大无明显规律,说明高浓度 Ca²⁺ 对萌发期截叶铁扫帚种子 SOD 活性有抑制作用,却能提高 POD 活性。GSH 含量随 Ca²⁺ 浓度增大呈现对数函数变化趋势($P<0.01$),说明随 Ca²⁺ 浓度升高,能刺激植物体内产生 GSH。可溶性蛋白随 Ca²⁺ 浓度增大呈正二次曲线变化趋势($P<0.01$),当 Ca²⁺ 浓度达到 50 mmol/L 时,铁扫帚种子可溶性蛋白含量达到最低,随后大幅上升。不同 Ca²⁺ 浓度下截叶铁扫帚种子萌发期生理指标变化综合分析表明,SOD、POD、GSH 和可溶性蛋白质含量均能够较好地指示钙盐胁迫对萌发期种子的生理生化伤害程度,同时 GSH 和可溶性蛋白质含量还可以反映萌发期种子开始受胁迫伤害的干旱水平,但是 CAT 活性则无法指示。

2.3 高钙干旱交互作用下种子萌发期生理指标变化

由图 3 可以看出,不同交互作用下 SOD 活性表现为 T_{p10×Ca100} 处理对截叶铁扫帚 SOD 活性有减弱作用,T_{p15×Ca10} 处理则有增强作用;不同交互作用下 POD 活性表现为 T_{p5×Ca10} 和 T_{p5×Ca50} 处理对 POD 活性有减弱作用,T_{p10×Ca50}、T_{p10×Ca100}、T_{p10×Ca150}、T_{p15×Ca10}、T_{p15×Ca50}、T_{p15×Ca100} 和 T_{p15×Ca150} 处理则有增强作用;不同交互作用下 CAT 活性表现为 T_{p5×Ca10} 处理对 CAT 活性有减弱作用,T_{p5×Ca100}、T_{p5×Ca150} 和 T_{p10×Ca150} 处理则有增强作用。不同交互作用下 GSH 含量表现为 T_{p5×Ca100}、T_{p10×Ca10} 和 T_{p15×Ca150} 处理对 GSH 含量有减少作用,T_{p5×Ca150}、T_{p15×Ca10}、T_{p15×Ca50} 和 T_{p15×Ca100} 处理则有增多作用;不同交互作用可溶性蛋白质含量表现为 T_{p5×Ca10}、T_{p5×Ca50}、T_{p5×Ca100} 和 T_{p5×Ca150} 处理对可溶性蛋白质含量有增多作用,而在其他处理下均不明显。进一步分析发现,T_{p5×Ca100} 处理增强 CAT 和可溶性蛋白,T_{p5×Ca150} 处理增强 CAT 和可溶性蛋白,T_{p10×Ca150} 处理增强 POD 和 CAT,T_{p15×Ca10} 处理增强 SOD、POD 和 GSH,T_{p15×Ca50} 处理增强 POD 和 GSH;T_{p10×Ca100} 处理降低了 SOD 和 GSH,T_{p5×Ca10} 处理降低了 POD 和 CAT。

结合不同 PEG 浓度下种子萌发期生理指标变化分析发现,中高浓度的钙可增强截叶铁扫帚对轻度干旱的忍耐性,高浓度的钙可增强截叶铁扫帚对中度干旱的忍耐性;结合不同 Ca²⁺ 浓度下种子萌发期生理指标变化分析发现,重度干旱可增强截叶铁扫帚对低中浓度钙的忍耐性,轻度干旱可增强截叶铁扫帚对中高浓度钙的忍耐性。综合分析发现,中高浓度钙可增强截叶铁扫帚对中度干旱的忍耐性,轻度干旱可增强其对中高浓度钙的忍耐性,重度干旱可增强其对中高浓度钙

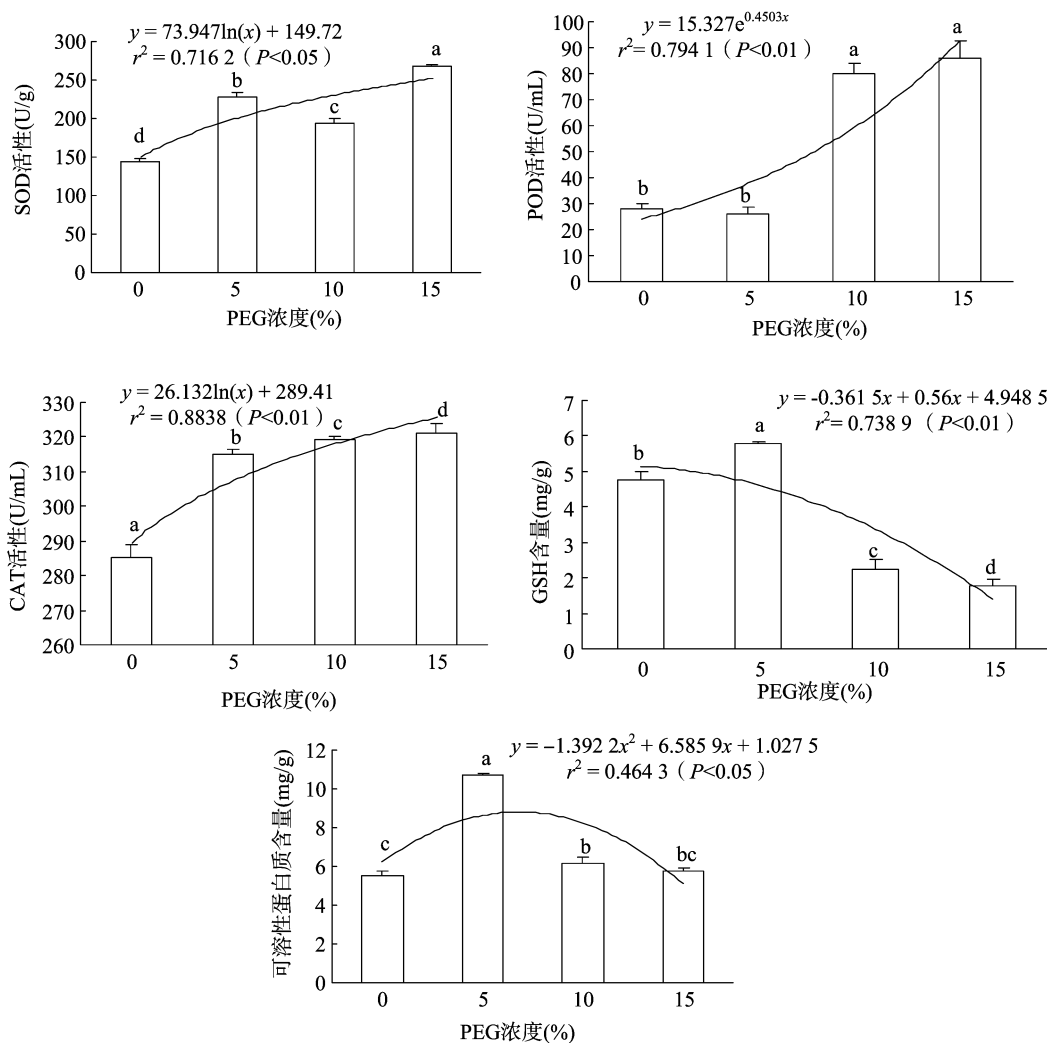


图1 不同 PEG 浓度下截叶铁扫帚种子萌发期生理指标变化

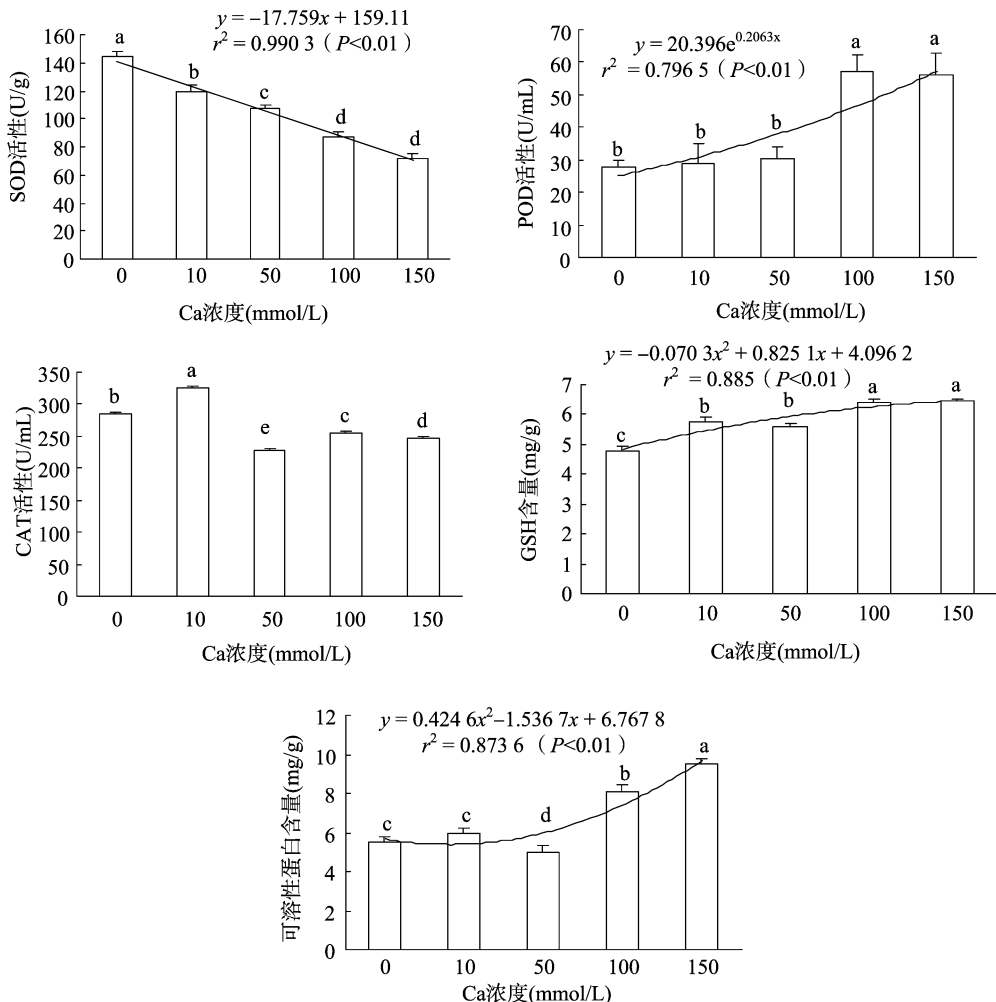
的忍耐性。说明截叶铁扫帚在长期的干旱富钙环境中,通过高钙干旱交互增效作用来提高其对环境适应性。

3 讨论

西南岩溶地区石漠化日趋严重,富钙缺水的环境特征对植物的生长发育影响重大,给石漠化治理带来很大困难,因此,为恢复石漠化地区的生态系统,研究石漠化地区植物的抗逆响应机制已成为当今人们关注的热点问题。关于抗旱方面的研究已有很多报道,如鞠乐等研究发现随着干旱程度的增加,大麦种子萌发期的 SOD 活性与可溶性蛋白升高,而 POD 与 CAT 的活性先升后降^[21]。本研究发现随干旱程度的增加,截叶铁扫帚 SOD 活性呈对数函数变化趋势,POD 活性呈指数函数变化趋势,而 CAT 活性呈对数函数变化趋势,GSH 和可溶性蛋白含量变化幅度不大,呈现正二次曲线变化趋势。这与鞠乐等人的研究结果类似,但是又有不同,可能是由于不同植物对干旱胁迫的响应有所差异。因此可以看出 SOD、POD、CAT、GSH 和可溶性蛋白质含量均能够较好地指示干旱胁迫对种子萌发期的生理生化伤害程度,同时 GSH 和可溶性蛋白质含量还可以反映萌发期种子开始受胁迫伤害的干旱水平。

围绕钙功能方面的研究也很多,发现钙不仅是植物生长发育所必需的营养元素,还可作为胞内生理生化反应的第二信使与耦联胞外信号^[22-24];但是直接以钙作为胁迫因子的研究却很少。廖汝玉等研究表明,与 0.4 mmol/L 对照处理相比,枇杷小苗培养 60 d 时,3.2 mmol/L 胁迫处理枇杷小苗 SOD 活性下降,CAT 活性处于动态平衡状态,GSH 含量下降^[23]。而本研究发现随 Ca^{2+} 浓度的增大,截叶铁扫帚 SOD 活性呈线性下降趋势,POD 活性呈指数函数变化趋势,CAT 活性无明显规律;GSH 呈现对数函数变化趋势,可溶性蛋白随 Ca^{2+} 浓度增大呈正二次曲线变化趋势。说明 SOD、POD、GSH 和可溶性蛋白质含量均能够较好地指示钙盐胁迫对萌发期种子的生理生化伤害程度,同时 GSH 和可溶性蛋白质含量还可以反映萌发期种子开始受胁迫伤害的干旱水平,但是 CAT 活性则无法指示,结果与廖汝玉等的研究结果^[23] 基本一致。这可能与钙信使功能有关,每种植物对钙信使的敏感程度不同,而钙的浓度过高或过低都会直接影响钙的信使功能,有关钙信使对活性氧伤害的调控作用还需要深入研究。

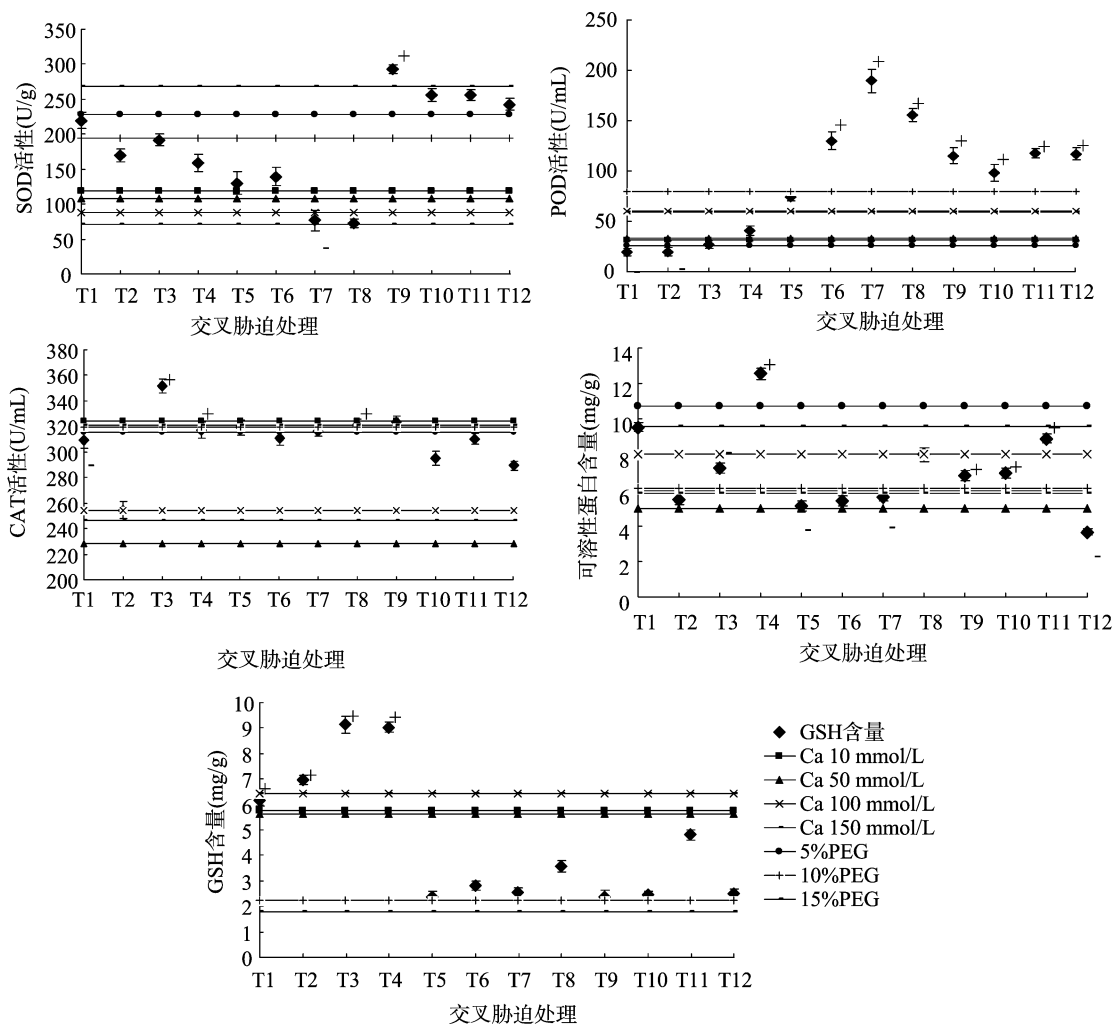
在自然的环境里,植物受到的胁迫并不是单一存在的,高钙、干旱是石漠化地区最常见的环境特征,关于高钙、干旱单一胁迫下的植物生理响应机制研究得很多,而外源钙对植物

图2 不同 Ca^{2+} 浓度下载叶铁扫帚种子萌发期生理指标变化

抗逆生理响应机制最近也成为许多学者关注的焦点。诸多报道表明施加外源钙能有效缓解逆境胁迫(如干旱、低温、高温、盐害等)对植物造成的伤害,改变 Ca^{2+} 浓度而使钙信使调控相关基因的表达与一些蛋白和酶的活性从而提高植物对逆境胁迫的适应性。一些学者对外源钙能提高植物对许多非生物逆境的适应性做了很多相关研究,发现当植物遭遇干旱胁迫时,施加一定量的外源钙对膜脂过氧化保护系统的酶活性具有诱导作用,能提高植物对自由基的清除能力^[22-24]。此外,也有学者从植物高钙适应方式角度研究植物的适应性,并发现专性钙生植物种高钙适应方式和广布植物种高钙适应方式各不相同,且是各种适生行为共同作用的结果,但不同植物种所起的主导行为不同^[25]。本研究从植物对干旱与高钙的互作机制角度分析了截叶铁扫帚对高钙干旱生境的生理生化行为,发现中高浓度钙可增强截叶铁扫帚对中度干旱的忍耐性,轻度干旱可增强其对中高浓度钙的忍耐性,重度干旱可增强其对中高浓度钙的忍耐性。说明截叶铁扫帚在长期的干旱富钙环境中,通过高钙干旱交互增效作用来提高其对环境适应性。

参考文献:

- [1] 刘从强. 生物地球化学过程与地表物质循环——西南喀斯特土壤-植被系统生源要素循环[M]. 北京: 科学出版社, 2009.
- [2] 曹建华, 袁道先, 潘根兴. 岩溶生态系统中的土壤[J]. 地球科学进展, 2003, 18(1): 37-45.
- [3] 李阳兵, 王世杰, 李瑞玲. 岩溶生态系统的土壤[J]. 生态环境, 2004, 13(3): 434-438.
- [4] 周运超, 王世杰, 卢红梅. 喀斯特石漠化过程中土壤的空间分布[J]. 地球与环境, 2010, 38(1): 1-7.
- [5] 谢丽萍, 王世杰, 肖德安. 喀斯特小流域植被-土壤系统钙的协变关系研究[J]. 地球与环境, 2007, 35(1): 26-34.
- [6] Terrill T H, Mosjidis J A, Moore D A, et al. Effect of pelleting on efficacy of sericea lespedeza hay as a natural dewormer in goats[J]. Veterinary Parasitology, 2007, 146(1/2): 117-122.
- [7] Lange K C, Olcott D D, Miller J E, et al. Effect of sericea lespedeza (*Lepedeza cuneata*) fed as hay, on natural and experimental *Haemonchus contortus* infections in lambs [J]. Veterinary Parasitology, 2006, 141: 273-278.
- [8] 覃 鹏, 刘飞虎, 梁雪妮. 超氧化物歧化酶与植物抗性[J]. 黑龙江农业科学, 2002(1): 31-34.
- [9] 姜义宝, 崔国文, 李 红. 干旱胁迫下外源钙对苜蓿抗旱相关生理指标的影响[J]. 草业学报, 2005, 14(5): 32-36.
- [10] 梁国玲, 周青平, 颜红波. 聚乙二醇对羊茅属 4 种植物种子萌发特性的影响研究[J]. 草业科学, 2007, 24(6): 50-54.



* T1表示 $T_{p5 \times Ca10}$ (即5%PEG与10 mmol/L Ca交叉胁迫处理), T2表示 $T_{p5 \times Ca50}$, T3表示 $T_{p5 \times Ca100}$, T4表示 $T_{p5 \times Ca150}$, T5表示 $T_{p10 \times Ca10}$, T6表示 $T_{p10 \times Ca50}$, T7表示 $T_{p10 \times Ca100}$, T8表示 $T_{p10 \times Ca150}$, T9表示 $T_{p15 \times Ca10}$, T10表示 $T_{p15 \times Ca50}$, T11表示 $T_{p15 \times Ca100}$, T12表示 $T_{p15 \times Ca150}$ 。

图3 高钙干旱交叉胁迫下载叶铁扫描种子萌发期生理指标变化

- [11] 刘明久, 卫秀英, 许桂芳. 钙对小麦种子活力的效应及影响机理的研究[J]. 河南职业技术学院学报, 1998, 26(2): 14-18.
- [12] 陈健, 宋松泉, 傅家瑞. 钙对玉米种子活力的作用[J]. 种子, 1998, 26(2): 14-18.
- [13] 张显强. 喜钙和嫌钙植物对环境 Ca^{2+} 响应特征的比较研究[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2005: 7-16.
- [14] 张宇斌, 张荣, 冯丽, 等. 外源 Ca^{2+} 对喜钙和嫌钙植物 POD 活性的影响[J]. 贵州师范大学学报: 自然科学版, 2008, 26(3): 10-13.
- [15] 张习敏. 喜钙植物叶片细胞内 Ca^{2+} 动态分布和 Ca^{2+} 对氮、磷亏缺影响研究[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2008: 5-20.
- [16] 姚长宏, 蒋忠诚, 袁道先. 西南岩溶地区植被喀斯特效应[J]. 地球学报, 2001, 22(2): 159-164.
- [17] 郭柯, 刘长成, 董鸣. 我国西南喀斯特植物生态适应性及石漠化治理[J]. 植物生态学报, 2011, 35(10): 991-999.
- [18] 胡楠, 范玉龙, 丁彦彦, 等. 伏牛山自然保护区森林土壤与植物功能群关系研究[J]. 河南大学学报: 自然科学版, 2009, 39

- (1): 72-77.
- [19] 孔祥生, 易现峰. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2008: 259-260.
- [20] 刘萍, 李明军. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 152-153.
- [21] 鞠乐, 齐军仓, 成禄艳, 等. 大麦种子萌发期对干旱胁迫的生理响应及其抗旱性评价[J]. 西南农业学报, 2013, 26(1): 93-98.
- [22] 董彩霞, 周健民, 赵世杰, 等. 外源钙对不同敏感型番茄幼苗生理特性的影响[J]. 应用生态学报, 2005, 16(2): 267-272.
- [23] 廖汝玉, 金光, 尹兰香, 等. 钙胁迫对枇杷小苗叶片活性氧代谢及膜系统的影响[J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2009, 31(2): 74-78.
- [24] Xiong L M, Schumaker K S, Zhu J K. Cell signaling during cold drought and salt stress[J]. Plant Cell, 2002, 14(8): 165-183.
- [25] 王程媛, 王世杰, 容丽, 等. 茂兰喀斯特地区常见蕨类植物的钙含量特征及高钙适应方式分析[J]. 植物生态学报, 2011, 35(10): 1061-1069.