

韩金龙,李 慧,蔺 经,等. 钙对盐胁迫下杜梨叶片抗氧化系统的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(6):245-248.

doi:10. 15889/j. issn. 1002-1302. 2016. 06. 068

钙对盐胁迫下杜梨叶片抗氧化系统的影响

韩金龙^{1,2}, 李 慧¹, 蔺 经¹, 杨青松¹, 常有宏¹

(1. 江苏省农业科学院园艺研究所/江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室, 江苏南京 210014;

2. 南京农业大学园艺学院, 江苏南京 210095)

摘要:为探讨外源钙对盐胁迫下杜梨叶片抗氧化系统的影响,以梨砧木杜梨幼苗为供试材料,在水培条件下,研究外源施加不同浓度的钙对 200 mmol/L NaCl 胁迫下其叶片抗氧化酶活性、活性氧产生、膜质过氧化和抗氧化物质含量的影响。结果显示:NaCl 胁迫 3 d 后,杜梨叶片中超氧化物歧化酶(SOD)活性减弱,过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽还原酶(GR)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)的活性增强,活性氧(O_2^- 、 H_2O_2)和丙二醛(MDA)大量积累,抗氧化物质谷胱甘肽(GSH)和抗坏血酸(AsA)合成下降。施加外源 $CaCl_2$ 能增强 NaCl 胁迫下杜梨叶片中 SOD、POD、CAT、GR、GSH-Px、APX 的活性,减少 O_2^- 和 H_2O_2 的产生,降低脂质过氧化程度,提高 GSH 和 AsA 的含量,有效缓解盐胁迫对杜梨叶片的过氧化伤害,其中以 10 $\mu\text{mol/L}$ $CaCl_2$ 处理效果最为显著。说明 NaCl 处理可对杜梨叶片造成氧化伤害,施加低浓度(5~10 $\mu\text{mol/L}$) $CaCl_2$ 处理可缓解盐胁迫对杜梨叶片抗氧化系统的影响。

关键词:杜梨;钙;盐胁迫;活性氧;抗氧化酶

中图分类号: S661. 201 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)06-0245-03

土壤盐渍化是影响农业生产与生态环境的一个重要因素。据不完全统计,世界上约有 10 亿 hm^2 盐渍地,我国约占其中的 3.75%,并且每年随着次生盐渍地的扩张,对我国的农业生产造成严重威胁^[1]。植物在盐胁迫下最直接的影响就是抑制其生长,严重时会造成渗透胁迫和离子胁迫,破坏其细胞结构和功能,甚至导致其死亡^[2]。因此,如何更好地利用开发盐渍地资源,已成为人们探讨的热点。而近些年,人们通过对外源缓冲剂研究的深入,已将其视为提高植物缓解盐胁迫的重要手段。

钙(calcium, Ca)是植物生长发育所必需的一种大量元素,在植物体内起着极其特殊的作用。它不仅能够维持细胞壁、细胞膜和膜结合蛋白的稳定性,参与调节无机离子运输,而且作为细胞内第二信使,能够将胞外信息传递给胞内,从而引起一系列的生理生化变化。目前研究发现,当植物受到逆境胁迫时,植物体细胞内的游离钙离子浓度会上升,并通过 Ca^{2+} 与 CaM 结合,形成 Ca^{2+} -CaM 复合体,再对逆境胁迫信号的感受、传递和响应,启动一系列生理生化过程,以适应外界环境^[3]。同时,外源施加钙也能提高植物的抗寒性^[4]、抗热性^[5]和抗盐性^[6]等多种抗性。本试验对盐胁迫下施加不同浓度钙离子,分析其对杜梨叶片抗氧化系统的影响,旨在为缓解梨树盐胁迫提供理论依据。

梨是世界及我国主栽果树之一。随着土壤盐渍化程度的

不断加剧,严重限制了梨产业的发展。梨树主要靠嫁接来繁殖,选择抗性强的砧木对嫁接苗的生长至关重要。杜梨(*Pyrus betulaefolia* Bunge)原产于中国,将其作为嫁接苗的砧木,能够提高梨树的耐盐能力^[7-8]。杜梨在盐胁迫下,通过减少 Na^+ 在根中积累和向地上部运输来适应逆境^[9-10],但在高盐胁迫下,植物仍能受到氧化胁迫等伤害^[11]。本试验对盐胁迫下施加不同浓度钙离子,分析其对杜梨叶片抗氧化系统的影响,旨在为缓解梨树盐胁迫提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料培养和处理

将杜梨种子埋在湿沙中至于 4 $^{\circ}\text{C}$ 温度中,经 3 个月的低温处理后,将有胚根幼苗移植于水培系统中(培养液为 Hoagland 营养液, pH 值 5.8),并放置于光照培养箱中,每 3 d 更换 1 次培养液。培养条件如下:光照周期 16 h/8 h(光照/黑暗),光照强度 300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,培养温度(25 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$,空气相对湿度 60%~70%。待植株长至 8 叶 1 心时,选择长势一致的健壮幼苗,并用蒸馏水冲洗干净,用含 200 mmol/L NaCl 的 Hoagland 营养液进行处理,并添加一定浓度的 $CaCl_2$ 母液,使其在水培系统中的浓度达到 0、5、10、50、100 $\mu\text{mol/L}$ 。以生长在不含 NaCl 和 $CaCl_2$ 的 Hoagland 营养液中的植株作为对照。每个处理设 3 次重复,处理 3 d 后收集杜梨叶片,用于测定各种生理指标。

1.2 测定指标及方法

1.2.1 活性氧和丙二醛含量测定 过氧化氢(H_2O_2)含量测定参照 Patterson 等的方法^[12]。新鲜叶片用 2 mL 预冷丙酮提取后,经 5% 硫酸钛处理所生成的氧化物-钛复合物黄色沉淀,用 2 mmol/L H_2SO_4 溶解后,在 415 nm 波长下比色测定,通过标准曲线计算叶片中 H_2O_2 含量。采用羟胺氧化法来测

收稿日期:2015-04-23

基金项目:国家自然科学基金(编号:31372051);江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(14)5018]。

作者简介:韩金龙(1989—),男,山西霍州人,硕士研究生,主要从事果树逆境生理和分子生物学研究。E-mail: hylong24@126.com。

通信作者:常有宏,研究员,硕士生导师,主要从事果树育种和栽培生理研究。E-mail: cyh@jaas.ac.cn。

定超氧阴离子 ($O_2^{\cdot -}$) 的产生速率^[13], 单位为 $nmol/(g \cdot min)$ 。采用硫代巴比妥酸 (TBA) 法测定丙二醛 (MDA) 含量^[14], 单位为 $nmol/(g \cdot min)$ 。

1.2.2 抗氧化酶活性测定 蛋白质含量的测定采用考马斯亮蓝法^[15]; 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性的测定采用氮蓝四唑 (nitroblue tetrazolium chloride, NBT) 光氧化还原法, 以抑制 NBT 光氧化还原 50% 的酶量为 1 个酶活性单位^[16]; 过氧化物酶 (peroxidase, POD) 活性的测定采用愈创木酚法^[16], 以 1 min 内 $D_{470\text{ nm}}$ 值变化 0.01 为 1 个酶活性单位; 过氧化氢酶 (catalase, CAT) 活性的测定参照 Aebi 的方法^[17], 以 1 min 内 $D_{240\text{ nm}}$ 值变化 0.1 为 1 个酶活性单位; 利用紫外分光光度法测定谷胱甘肽还原酶 (glutathione reductase, GR) 的活性, 以 340 nm 处的吸光度变化为 NADPH 的消耗量, 计算 GR 活性^[18]; 谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 活性采用黄爱纛等的方法^[19]测定, 以每毫克蛋白质 1 min 使反应体系中 GSH 浓度降低 1 $\mu\text{mol/L}$ 为 1 个活性单位 (扣除非酶促反应)。参照 Nakano 等的方法^[20]来测定抗坏血酸过氧化物酶 (ascorbic acid peroxidase, APX) 的活性, 以 1 min 内 $D_{290\text{ nm}}$ 值变化 0.1 为 1 个酶活性单位。

1.2.3 抗氧化物质含量 总谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 含量采用 5,5-二巯基-2-硝基苯酸 (5,5-dithiobis-2-nitrobenoic acid, DTNB) 法^[21]测定; 抗坏血酸 (ascorbic acid, AsA) 含量采用分光光度法测定, 在红菲咯啉存在的条件下, AsA 所还原的亚铁离子与其反应形成红色螯合物, 通过测定 $D_{534\text{ nm}}$ 来计算 AsA 含量^[22]。

1.3 数据分析

采用 Excel 2007、SPSS 16.0 软件对试验数据进行分析 and 制作表格, 并运用 LSD 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 钙对盐胁迫下杜梨叶片活性氧和 MDA 含量的影响

由表 1 可以看出, 在盐胁迫 (200 $\mu\text{mol/L}$ NaCl) 处理 3 d 后, 杜梨叶片中超氧阴离子 ($O_2^{\cdot -}$) 的产生速率是对照的 2.37 倍, H_2O_2 、MDA 的含量分别是对照的 2.24、1.64 倍, 这会造成植株叶片细胞活性氧代谢系统失去平衡, 发生膜脂过氧化。施加 5 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ $CaCl_2$ 后, $O_2^{\cdot -}$ 的产生速率、 H_2O_2 和

MDA 的含量均随着 $CaCl_2$ 浓度的增加呈现先下降后升高的趋势。当 $CaCl_2$ 为 5 ~ 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, $O_2^{\cdot -}$ 的产生速率、 H_2O_2 含量、MDA 的含量显著降低 (降低 27.6% ~ 42.8%、36.1% ~ 42.9%、10.6% ~ 25.0%), 且 10 $\mu\text{mol/L}$ $CaCl_2$ 处理组中, 上述 3 个指标最低 (表 1)。然而, 当 $CaCl_2$ 为 50 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 反而会刺激活性氧的积累 ($O_2^{\cdot -}$ 产生速率和 H_2O_2 含量增加), 加剧膜质过氧化 (MDA 积累)。

表 1 钙对 NaCl 胁迫下杜梨叶片 $O_2^{\cdot -}$ 产生速率、 H_2O_2 和 MDA 含量的影响

处理 ($\mu\text{mol/L}$)		H_2O_2 含量	$O_2^{\cdot -}$ 产生速率	丙二醛含量
NaCl	$CaCl_2$	($nmol/g$)	[$nmol/(g \cdot min)$]	($nmol/g$)
0	0	70.04 ± 5.68c	2.39 ± 0.23e	16.73 ± 1.13d
200	0	157.07 ± 11.91a	5.67 ± 0.69a	27.38 ± 1.22a
200	5	100.33 ± 7.62b	4.10 ± 0.28c	24.48 ± 1.23bc
200	10	89.67 ± 5.55c	3.24 ± 0.19d	20.53 ± 1.17c
200	50	109.67 ± 16.64b	3.92 ± 0.41c	23.46 ± 1.61bc
200	100	136.33 ± 11.89a	4.63 ± 0.31b	27.81 ± 1.63a

注: 同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。表 2、表 3 同。

2.2 钙对盐胁迫下杜梨叶片抗氧化酶活性的影响

由表 2 可知, 盐胁迫 (200 $\mu\text{mol/L}$ NaCl) 处理 3 d 后, 杜梨叶片中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性显著降低 (仅为对照的 60.4%), 而过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽还原酶 (GR)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性均有不同程度升高 (为对照的 1.18 ~ 1.78 倍)。这表明 NaCl 胁迫可轻微诱导杜梨叶片中 POD、CAT、GR、GSH-Px、APX 活性增强, 却抑制 SOD 的活性。施加 5 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ $CaCl_2$ 后, 抗氧化酶的活性均随着 $CaCl_2$ 浓度的增加呈先增强后减弱的趋势。当 $CaCl_2$ 为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 抗氧化酶 (除 APX) 的活性较盐胁迫下差异最明显 (为盐胁迫下的 1.21 ~ 1.46 倍)。然而, 当 $CaCl_2$ 为 50 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 抗氧化酶 (除 APX、GSH-Px) 的活性较 10 $\mu\text{mol/L}$ $CaCl_2$ 处理又显著降低, 且 100 $\mu\text{mol/L}$ $CaCl_2$ 处理与盐胁迫下相比较, 抗氧化酶活性差异不显著。而当 $CaCl_2$ 为 5 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, APX 的活性均没有显著差异, 但均比对照显著增强。

表 2 钙对 NaCl 胁迫下杜梨叶片中抗氧化酶活性的影响

处理 ($\mu\text{mol/L}$)		SOD 活性	POD 活性	CAT 活性	GR 活性	GSH-Px 活性	APX 活性
NaCl	$CaCl_2$	[$U/(mg \cdot min)$]	[$U/(mg \cdot min)$]	[$U/(mg \cdot min)$]	[$U/(g \cdot min)$]	[$U/(mg \cdot min)$]	[$U/(g \cdot min)$]
0	0	104.49 ± 8.22a	18.14 ± 1.30d	15.91 ± 3.17c	6.16 ± 0.59d	7.57 ± 0.61c	8.86 ± 0.73c
200	0	63.14 ± 7.66e	24.03 ± 1.85c	21.48 ± 1.44b	10.98 ± 0.97c	8.91 ± 0.56c	10.46 ± 0.74b
200	5	77.15 ± 9.61d	28.68 ± 2.29bc	22.87 ± 3.76b	15.53 ± 2.42b	10.51 ± 1.24bc	11.14 ± 1.08ab
200	10	92.39 ± 6.62b	32.59 ± 2.01a	26.14 ± 3.64a	20.42 ± 0.69a	14.27 ± 1.37a	13.27 ± 0.94ab
200	50	85.68 ± 6.40c	27.34 ± 2.49bc	23.24 ± 3.29b	16.51 ± 1.52b	12.21 ± 0.79ab	12.21 ± 1.09ab
200	100	75.17 ± 9.32d	22.86 ± 1.76c	20.36 ± 1.99bc	11.51 ± 0.86c	9.47 ± 0.97bc	10.81 ± 2.75b

2.3 钙对盐胁迫下杜梨叶片抗氧化物质含量的影响

由表 3 可知, 盐胁迫 (200 $\mu\text{mol/L}$ NaCl) 处理 3 d 后, 杜梨叶片中抗氧化物质 GSH、AsA 含量显著降低 (仅为对照的 38.2% ~ 44.9%), 严重影响植株自身清除自由基的能力。施加 5 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ $CaCl_2$ 后, 抗氧化物质含量随着 $CaCl_2$ 浓度的增加呈现先增加后减少的趋势。当 $CaCl_2$ 为 5 ~

100 $\mu\text{mol/L}$ 时, GSH 的含量较盐胁迫下均显著提高, 其中以 $CaCl_2$ 为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时差异最显著, 含量为盐胁迫下的 2.43 倍。AsA 的含量随着 $CaCl_2$ 浓度的升高呈现先升高后降低的趋势, 其中当 $CaCl_2$ 为 10 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, AsA 的含量较盐胁迫下均显著提高, 且在 10 $\mu\text{mol/L}$ 时差异最显著, 含量为盐胁迫下的 2.07 倍。

表 3 钙对 NaCl 胁迫下杜梨叶片中抗氧化物质 GSH、AsA 含量的影响

处理(μmol/L)		GSH 含量 (μmol/g)	AsA 含量 (μmol/g)
NaCl	CaCl ₂		
0	0	0.55 ± 0.04a	4.37 ± 0.35a
200	0	0.21 ± 0.06c	1.96 ± 0.32cd
200	5	0.34 ± 0.05b	2.58 ± 0.21c
200	10	0.51 ± 0.03a	4.05 ± 0.38a
200	50	0.36 ± 0.04b	3.49 ± 0.04ab
200	100	0.31 ± 0.02b	3.10 ± 0.25b

3 结论与讨论

盐胁迫会引起植物体内发生一系列生理生化的变化,影响植物的正常生理调节。钙是植物生长发育的必需元素,当植物处于盐胁迫时,细胞内的盐离子与 Ca^{2+} 的吸收形成竞争作用,使得 Ca^{2+} 不能被充分利用,导致植物细胞对 Ca^{2+} 的紧缺。盐胁迫对植物体的伤害,主要是通过对质膜完整性和钙信号转导系统的破坏^[23-24],而添加一定浓度的外源钙能够有效缓解盐胁迫对其带来的伤害^[25]。这可能是因为添加外源钙不仅能够补充植物体本身所需的钙元素,而且能够增加质膜的稳定性,恢复钙信号转导系统,同时维持细胞内的离子平衡。而钙是一种膜保护剂,能够稳定膜上的蛋白质,降低质膜透性,维持细胞内的离子区域化,使得植物细胞内的各种生理代谢正常进行,从而提高植物的耐盐性。

高浓度的钙对植物体的影响则截然相反。有研究表明,高浓度的 Ca^{2+} 能够降低植物的叶绿素含量和光合强度,同时对水稻幼苗的生长产生抑制作用^[26]。这可能是因为过多的钙离子积累会打破细胞内原有的营养平衡,对植物细胞造成新的离子毒害,迫使细胞产生渗透胁迫等不利于植物生长的因素。同时,高浓度的 Ca^{2+} 还会引起细胞内的 Ca^{2+} 浓度变化,进而在细胞内产生一系列生理生化的变化,造成膜损伤等伤害^[27]。另外,虽然 Ca^{2+} 与 Na^{+} 的生物功能不同,但是它们的化学性质却有很多相似性,在吸收过程中会形成竞争关系,而且离子过量对植物的伤害都是一样的。本试验中添加的 CaCl_2 在为杜梨幼苗提供了所需要的 Ca^{2+} 的同时,也过量积累了 NaCl 胁迫中的 Cl^{-} ,加剧了植物的盐胁迫。

本试验结果表明,盐胁迫下,杜梨叶片中 $\text{O}_2^{\cdot -}$ 产生速率、 H_2O_2 含量和 MDA 含量均显著增加;同时 SOD 活性降低,却在不同程度上刺激了 POD、CAT、GR、GSH-Px、APX 的活性,使它们的活性增强;但抗氧化物质 GSH、AsA 的含量显著降低。而在添加 5、10、50、100 μmol/L CaCl_2 后,它们的含量或者活性都呈一定的变化规律,且在 CaCl_2 浓度为 10 μmol/L 时,活性氧的含量降至最低水平,有效缓解了膜脂过氧化,同时所有抗氧化酶的活性达到最高水平,抗氧化物质的含量与对照条件下差异不显著,因此,盐胁迫对杜梨叶片带来的氧化损伤也是最低的。可能是因为当 CaCl_2 浓度为 5 μmol/L 或 10 μmol/L 时,植物对钙离子吸收增多,吸收到的钙离子能与细胞膜上的相关物质结合,维持细胞膜的稳定性,降低膜透性,避免吸收更多的 Na^{+} ;同时 Ca^{2+} 通过对细胞内离子区域化作用,将胞内多余的 Na^{+} 区隔开,从而保证细胞内各种代谢正常进行,对提高植物的耐盐性有一定的作用。当 CaCl_2 浓度为 50 μmol/L 或 100 μmol/L 时,植物细胞内 Ca^{2+} 含量增

多,可能对植物细胞造成了新的离子伤害,使得活性氧含量上升,膜脂过氧化加剧,抗氧化酶的活性减弱,同时抗氧化物质含量也显著降低。这表明单纯的钙处理对植物缓解盐胁迫的能力是有限的,其具体原因还有待进一步研究。

综上所述,200 mmol/L 盐胁迫能对杜梨叶片造成很大程度的氧化伤害,而施加低浓度(5 ~ 10 μmol/L) CaCl_2 可以有效缓解这些伤害,这可能与 Ca^{2+} 在植物中能够维持细胞膜稳定性,具有离子区域化作用,作为细胞内第二信使调节植物生理代谢等作用有关。

参考文献:

- [1] 章文华. 植物的抗盐生理和盐害的防治[J]. 植物生理学通讯, 1997, 33(6): 479.
- [2] Parida A K, Das A B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2005, 60(3): 324 - 349.
- [3] Braam J, Davis R W. Rain -, wind -, and touch - induced expression of calmodulin and calmodulin - related genes in *Arabidopsis*[J]. Cell, 1990, 60(3): 357 - 364.
- [4] 张燕, 方力, 李天飞, 等. 钙对低温胁迫的烟草幼苗某些酶活性的影响[J]. 植物学通报, 2002, 19(3): 342 - 347.
- [5] 张建霞, 李新国, 孙中海. 外源钙对柑橘抗热性的相关生理生化指标的影响[J]. 华中农业大学学报, 2005, 24(4): 397 - 400.
- [6] 朱晓军, 梁永超, 杨劲松, 等. 钙对盐胁迫下水稻幼苗抗氧化酶活性和膜脂过氧化作用的影响[J]. 土壤学报, 2005, 42(3): 453 - 459.
- [7] Okubo M, Sakuratani T. Effects of Sodium chloride on survival and stem elongation of two Asian pear rootstock seedlings[J]. Scientia Horticulturae, 2000, 85(1/2): 85 - 90.
- [8] Matsumoto K, Tamura F, Chun J P, et al. Enhancement in salt tolerance of Japanese pear by using *Pyrus betulaefolia* rootstock[J]. Horticulture Res, 2007, 6(1): 47 - 52.
- [9] Okubo M, Furukawa Y, Sakuratani T. Growth, flowering and leaf properties of pear cultivars grafted on two Asian pear rootstock seedlings under NaCl irrigation[J]. Scientia Horticulturae, 2000, 85(1/2): 91 - 101.
- [10] Matsumoto K, Chun J P, Tamura F, et al. Salt tolerance in *Pyrus* species is linked to levels of Na and Cl translocation from roots to leaves[J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 2006, 75(5): 385 - 391.
- [11] Wu Q S, Zou Y N. Adaptive responses of birch - leaved pear (*Pyrus betulaefolia*) seedlings to salinity stress[J]. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 2009, 37(1): 133 - 138.
- [12] Patterson B D, Macrae E A, Ferguson I B. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium (IV)[J]. Analytical Biochemistry, 1984, 139(2): 487 - 492.
- [13] Elstner E F, Heupel A. Inhibition of nitrite formation from hydroxylammoniumchloride: a simple assay for superoxide dismutase[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 70(2): 616 - 620.
- [14] 李合生. 植物生理学实验技术指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001.
- [15] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein - dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1/2): 248 - 254.

管雪松,李洪岩,欧阳明安. 累积嫁接对黄瓜雌雄花及花粉萌发的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(6):248-251.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.06.069

累积嫁接对黄瓜雌雄花及花粉萌发的影响

管雪松,李洪岩,欧阳明安

(福建农林大学生物农药与化学生物学教育部重点实验室,福建福州 35000)

摘要:通过插接法对接穗黄瓜和砧木黑籽南瓜进行多次累积嫁接,研究不同嫁接次数黄瓜雌雄花的生物学性状和花粉在不同温度下萌发率的变化。结果表明,巨丰八号黄瓜接穗生长节间数分别为2~10节位、11~20节位、大于20节位时,其黄瓜雄花的花梗长、花瓣长、总长和质量均显著高于自根苗,且雄花梗长随嫁接次数的增加呈先增加后略降低趋势,2~10节位嫁接的花梗比其他更长;盛花期时,嫁接黄瓜的雌花其果梗长、花瓣长和总长显著大于对照,而子房长度显著小于对照,2次嫁接的黄瓜子房最短;嫁接的黄瓜花粉萌发率显著高于对照,且具有一定耐低温和高温特性;10、35℃处理下,花粉萌发率随嫁接次数提高而提高。累积嫁接具有一定的性状累积效应,这为嫁接诱变育种提供了基础资料。

关键词:累积嫁接;黄瓜;生物学性状;花粉萌发;花梗;节位

中图分类号: S642.201 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)06-0248-04

植物嫁接技术被广泛应用于农业、林业中,对提高植物抗生物和非生物胁迫、作物产量,改善作物品质等有重大意义^[1-4]。目前,随着国内外对嫁接嵌合体接穗和砧木间频繁大量遗传物质交流的深入研究,嫁接可促使不同物种间基因水平转移(horizontal gene transfer, HGT)^[5-6]或诱导接穗DNA甲基化^[7],使其具有可遗传性变异,这为作物遗传育种提供了新思路和新方法。嫁接是无性繁殖,但大量研究表明,嫁接可以诱导植物产生变异,主要是来自韧皮部RNA的运输调控作用^[8-9],近年来,在蓖麻、西瓜、拟南芥、甜瓜、黄瓜等植物韧

皮液中发现大量的mRNA,且具有广泛的功能^[10-13]。Xoconostle-Cázares等在南瓜韧皮液内得到第1个RNA结合蛋白CmPP16^[14];同年,Ruiz-Medrano等以黄瓜为接穗、南瓜为砧木进行异源嫁接,结果表明,CmGAIP、CmPP16、CmNACP可从南瓜砧木中被运输到黄瓜接穗^[15]。Ham等发现,CmGAIP、CmPP16、CmSTMP、CmMybP可与蛋白CmRBP50一起被运输到黄瓜接穗中,南瓜韧皮部中CmGAIP是能进行长距离移动且具有功能的RNA^[16]。Haywood等研究发现,当野生型番茄为接穗和含南瓜功能缺失突变基因Cmgai或拟南芥 Δ DELLA-gai转基因番茄为砧木,其接穗叶片形态也随之改变^[17]。

黄瓜是葫芦科重要的一种蔬菜,黑籽南瓜是一种对低温、干旱、土壤贫瘠及瓜类枯萎病等逆境具有较强抗性的葫芦科草本植物^[18],栽培过程中,常用黑籽南瓜(*Cucurbita ficifolia*)作为砧木^[19]来提高黄瓜嫁接苗的抗土传病害、耐盐胁迫、产量等^[20-21]。目前,研究较多的是1次嫁接引起的接穗变异,

收稿日期:2015-12-29

基金项目:福建省自然科学基金(编号:K1312004C);福建省重点基金项目(编号:K53150006A)。

作者简介:管雪松(1989—),男,湖北黄冈人,硕士研究生,从事嫁接诱变育种研究。E-mail:fafugxs@163.com。

通信作者:欧阳明安,男,研究员,主要从事小分子化合物与生物学研究。E-mail:maoyang@hqu.edu.cn。

[16] Ma C, Wang Z Q, Kong B B, et al. Exogenous trehalose differentially modulate antioxidant defense system in wheat callus during water deficit and subsequent recovery[J]. Plant Growth Regulation, 2013, 70(3): 275-285.

[17] Aebi H. Catalase *in vitro* [J]. Methods in Enzymology, 1984, 105: 121-126.

[18] Ali B, Tao Q J, Zhou Y F, et al. 5-Aminolevulinic acid mitigates the cadmium-induced changes in *Brassica napus* as revealed by the biochemical and ultra-structural evaluation of roots [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2013, 92: 271-280.

[19] 黄爱媛, 吴珍龄. 水稻谷胱甘肽过氧化物酶的测定法[J]. 西南农业大学学报, 1999, 21(4): 24-27.

[20] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts [J]. Plant & Cell Physiology, 1981, 22(5): 867-880.

[21] Anderson M E. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples[J]. Methods in Enzymology, 1985, 113:

548-555.

[22] Law M Y, Charles S A, Halliwell B. Glutathione and ascorbic acid in spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplast. The effect of hydrogen peroxide and of paraquat[J]. Journal of Biochemistry, 1983, 253: 109-116.

[23] Cramer G R, Löuchli A, Polito V S. Displacement of Ca by Na from the plasmalemma of root cells: a primary response to salt stress [J]. Plant Physiology, 1985, 79(1): 207-211.

[24] Lynch J, Polito V S, Löuchli A. Salinity stress increases cytoplasmic Ca activity in maize root protoplasts [J]. Plant Physiology, 1989, 90(4): 1271-1274.

[25] Ben A N, Megdiche W, Jiménez A, et al. The effect of calcium on the antioxidant systems in the halophyte *Cakile maritima* under salt stress [J]. Acta Physiologica Plantarum, 2010, 32(3): 453-461.

[26] 周 焱. Ca²⁺对水稻幼苗生长的影响[J]. 贵州师范大学学报: 自然科学版, 2002, 20(3): 12-14.

[27] 王勋陵, 陈鑫阳, 鲁晓云. 钙对臭氧伤害小麦的防护作用[J]. 西北植物学报, 1993, 13(3): 163-169.