

外源氯化钙对盐胁迫下西兰花抗氧化酶系统及离子吸收的影响

丁能飞¹,傅庆林¹,刘琛¹,林义成¹,郭彬¹,孙慧锋²

(¹浙江省农业科学院环境资源与土壤肥料研究所,杭州 310021;

²绍兴市越城区环境卫生管理处,浙江绍兴 312000)

摘要:以美国“格福”与日本“山水”两种耐盐性不同的西兰花为试验材料,采用基质营养液栽培,研究了外源氯化钙对盐胁迫下西兰花鲜重、干重、MDA、抗氧化酶活性及离子吸收的影响。结果表明:外源钙的添加,可显著促进西兰花的生长,减轻盐胁迫,增加地上部、地下部干重及鲜重。外源钙处理明显降低了西兰花叶片MDA含量,减轻盐胁迫对叶片膜脂过氧化程度。外源钙处理对西兰花SOD、POD、CAT活性的影响因品种耐盐性不同表现不一。外源钙处理可减少西兰花地上部、地下部Na⁺的积累,增加K⁺、Ca²⁺的浓度。外源钙处理对盐敏感品种的效果要好于耐盐品种。最佳的钙浓度为10 mmol/L。

关键词:钙;盐胁迫;西兰花;抗氧化酶;离子吸收

中图分类号:Q945

文献标志码:A

论文编号:2009-2259

Effects of Exogenous Calcium Chloride on Antioxidant Enzymes Activities and Ions Uptake of Broccoli under Salt Stress

Ding Nengfei¹, Fu Qinglin¹, Liu Chen¹, Lin Yichen¹, Guo Bin¹, Sun Huifeng²

(¹Institute of Environment, Resource, Soil and Fertilizer, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021;

²Shao Xing Environment and Sanitation Administrative Bureau, Shaoxing Zhejiang 312000)

Abstract: Broccolis Gefu (salt tolerant) and Shanshui (salt sensitive) were conducted to study the effects of exogenous calcium chloride on fresh weight, dry weight, ions content and different antioxidant enzymes activities under salt stress. The results showed that exogenous calcium could promote the growth of broccoli significantly, alleviate the effect of salt stress and increase the fresh and dry weight of broccoli. Exogenous calcium reduced MDA content and alleviated the level of membrane lipid peroxidation in broccoli under salt stress. The effect of exogenous calcium on the activities of SOD, POD and CAT differed with the varieties of broccolis. Exogenous calcium could increase the K⁺, Ca⁺ uptake of shoot and root, but there was a negative effect on Na⁺. Compared with the salt-tolerance broccoli, the effect of exogenous calcium on salt-sensitive broccoli was better. During experiment, we found that 10 mmol/L was the best concentration of exogenous calcium to alleviate salt injury of broccoli.

Key words: calcium; salt stress; broccoli; antioxidant enzymes; ions uptake

0 引言

土壤盐渍化是影响农业生产及生态环境的一个全球性问题,也是制约中国农业增产的一个主要因素之一^[1-2]。在盐胁迫下,植物细胞内活性氧产生与清除之

间的平衡遭到破坏,膜脂过氧化作用增强,从而导致细胞质膜透性增大、离子平衡失调、代谢紊乱等一系列不良链式反应^[3-4]。钙做为一种植物必需矿质元素,是细胞内生理生化反应的第二信使偶联外信号,也是一种

基金项目:浙江省重大项目(2005C12025);浙江省面上项目(2007C23046)。

第一作者简介:丁能飞,男,1977年出生,硕士,助理研究员,主要从事海涂综合利用与生态环境研究。通信地址:310021 浙江省农科院环土所杭州市石桥路198号。Tel: 0571-86404041 E-mail: canfly007@hotmail.com。

通讯作者:傅庆林,男,1963年出生,研究员,主要从事农业生态和区域农业持续发展研究。E-mail: fuql@zaas.org。

收稿日期:2009-10-28,修回日期:2009-11-23。

很好的膜保护剂,对维持细胞壁、细胞膜以及膜结合蛋白的稳定性,调节无机离子的运输,调控多种酶活性等起重要的作用。盐胁迫下外源施加适量的钙,一方面可以缓解因钙不足造成的矿质营养胁迫,另一方面能够增强质膜的稳定性和钙信号系统的正常发生和传递,阻止细胞内钾的外流和钠的大量进入,以维持细胞内离子平衡。

西兰花,又叫绿菜花、青花菜、茎椰菜、意大利芥蓝、木立花椰菜等,属十字花科(*Cruciferae*)芸薹属甘蓝种中以绿花球为产品的一个变种,富含维生素C、胡萝卜素,具有抗癌、抗氧化等药用价值,在日、韩、欧美等国家具有广阔的消费市场。近年来,西兰花在中国的栽培面积日益扩大,是主要出口创汇的蔬菜之一。以往的研究表明,钙能提高水稻、花生、杂交酸模等植物的多种抗性,如抗冷性、抗热性、抗盐性等^[5-7]。但有关钙如何影响盐胁迫条件下西兰花抗氧化酶及矿质离子方面的研究还鲜有报道。笔者研究了外源钙对盐胁迫下西兰花的鲜重、干重、抗氧化酶活性及离子吸收的影响,为进一步探讨外源钙在盐胁迫下对蔬菜的耐盐机理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物的培养与处理

试验于2008年在浙江省农业科学院环境资源与土壤肥料研究所的玻璃温室内进行。供试材料为耐盐性不同的两个西兰花品种,分别为较耐盐的美国“格福”与对盐分较敏感的日本“山水”。种子播于塑料育秧盆中,采用基质营养液栽培,基质为蛭石:珍珠岩=2:1(V/V),营养液采用Hoagland配方,按苗的大小依次采用1/4、1/2、完全营养液。待幼苗长至三叶一心期时移至10 cm×12 cm的塑料钵中,每盆移栽2株。

试验设5个处理,4个重复:

(1)CK:完全营养液;

(2)S:完全营养液+100 mmol/L NaCl;

(3)S+Ca1:完全营养液+100 mmol/L NaCl+2.5 mmol/L CaCl₂;

(4)S+Ca2:完全营养液+100 mmol/L NaCl+5 mmol/L CaCl₂;

(5)S+Ca3:完全营养液+100 mmol/L NaCl+10 mmol/L CaCl₂。

处理期间每4天换一次营养液,处理10天后采集各处理相同部位叶片进行SOD、POD、CAT、MDA的测定。处理30天后收获,分别测定地上部、地下部的鲜重、干重、K⁺、Na⁺、Ca²⁺、Mg²⁺含量。

1.2 样品分析

1.2.1 SOD活性测定 取叶片0.5 g于冰冻研钵中,分次加8 mL预冷的0.05 mol/L BPS(pH 7.8)在冰浴上研磨成浆,在4℃,5000 r/min下离心15 min,上清液即为粗酶液。活性测定方法为NBT(氮蓝四唑)光化还原法^[8],以抑制NBT光化还原50%的酶量为1个酶活单位。

1.2.2 POD活性测定 取叶片0.5 g于冰冻研钵中,分次加8 mL预冷的0.05 mol/L BPS(pH 6.0)在冰浴上研磨成浆,在4℃,5000 r/min下离心15 min,上清液即为粗酶液。活性测定方法为愈创木酚法^[9],以每分钟A₄₇₀变化0.01为1个过氧化物酶活性单位(U)。

1.2.3 CAT活性测定 酶液提取方法同SOD,活性测定方法为紫外吸收法^[10],以1 min内A₂₄₀减少0.1的酶量为一个酶活性单位(U)。

1.2.4 酶液中可溶性蛋白测定 酶液提取方法同SOD,测定方法为紫外吸收法^[11],用0.1 mol/L pH 7.0磷酸缓冲液适当稀释后,用紫外分光光度计分别在280 nm和260 nm波长下读取吸光度,以pH 7.0磷酸缓冲液为空白调零,计算蛋白质浓度。

1.2.5 MDA含量的测定 采用王学奎^[12]的方法。

1.2.6 植株K⁺、Na⁺、Ca²⁺、Mg²⁺测定 用三酸(HNO₃:HClO₄:H₂SO₄=8:1:1)消化后,用美国Pekin-Elmer AA800原子吸收分光光度计测定。

1.3 数据处理

所有数据采用STATISTICA软件进行单因素方差分析,并进行Duncan's多重比较。

2 结果与讨论

2.1 外源钙对盐胁迫下西兰花生长的影响

从表1可以看出,盐胁迫显著抑制了西兰花幼苗的生长,显著降低了植株地上部、地下部干重及鲜重。NaCl处理对盐敏感品种山水的抑制程度大于耐盐品种格福,在相同浓度盐胁迫下,山水的鲜重、干重分别比对照下降了51.7%与52.7%,而格福的鲜重、干重仅比对照下降了38.9%与46.3%。在盐胁迫下加钙处理均可改善植株的生长,两个品种均随着外源钙的增加,其鲜重、干重随之显著增加。不同钙浓度的处理之间也存在显著性的差异,以添加10 mmol/L CaCl₂的处理效果最佳。Tuna^[12]的研究结果表明适量的硫酸钙添加后,可显著改善盐胁迫下番茄的生长,提高番茄的产量。笔者与Tuna的研究结果较为一致。

2.2 外源钙对盐胁迫下西兰花叶片MDA含量的影响

MDA是膜脂过氧化作用的主要产物之一,其含量的高低是反应细胞膜脂过氧化作用强弱的重要指标。从图1可以看出,盐胁迫使两个耐盐性不同的西兰花

表1 外源钙对盐胁迫下西兰花生长的影响

品种	处理	总鲜重/(g/盆)	总干重/(g/盆)	地上部干重/(g/盆)	地下部干重/(g/盆)
山水	CK	127.03 a	15.23 a	12.17 a	3.06 a
	S	61.33 d	7.20 e	5.70 d	1.50 d
	S+Ca1	73.40 cd	8.87 d	7.20 c	1.67 d
	S+Ca2	84.40 bc	10.50 c	8.40 c	2.10 c
	S+Ca3	97.47 b	12.40 b	9.80 b	2.60 b
格福	CK	120.77 a	16.83 a	13.24 a	3.59a
	S	73.83 d	9.03d	6.97 d	2.06c
	S+Ca1	87.20 c	11.80c	8.93 c	2.87b
	S+Ca2	92.63 bc	13.37bc	10.37 bc	3.00ab
	S+Ca3	100.93 b	13.87b	10.63 b	3.24ab

注:同列数值后不同字母表示在 $P \leq 5\%$ 水平上具有显著性差异,下同。

品种叶片含量均显著增加,但耐盐性强的格福叶片中MDA含量及增幅明显低于盐敏感品种山水,格福MDA含量增幅仅为77.5%,而山水MDA含量增幅高达119.9%。外源钙处理明显降低了叶片MDA含量,以山水为例,加2.5、5、10 mmol/L CaCl_2 分别比盐处理下降了22.6%、32.0%、39.3%,而相同处理格福MDA含量降幅分别为12.3%、17.7%、28.7%,外源钙处理对盐敏感品种效果要好于耐盐品种。朱晓军等的研究结果表明,适当浓度的 Ca^{2+} 降低了盐胁迫下水稻幼苗的电解质渗漏率和MDA含量,维持了细胞质膜的完整性^[2]。其原因可能是 Ca^{2+} 与膜磷脂上的极性头部相连接,发生交联作用,从而使膜脂上的蛋白质和磷脂结合紧密,降低膜透性^[6]。

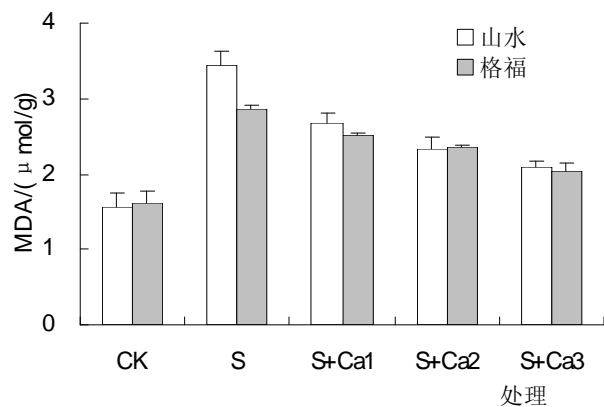


图1 外源钙对盐胁迫下西兰花MDA活性的影响

2.3 钙对盐胁迫下西兰花叶片抗氧化酶系统的影响

SOD是生物体内清除超氧自由基中重要的一种酶,在植物正常生长条件下SOD的含量一般很低,当遇到外界胁迫时,SOD活性升高,植物抗逆能力增强。从图2可以看出,盐胁迫下不同耐盐品种的西兰

花叶片SOD活性变化不一,山水SOD活性未发生显著变化,而格福SOD活性显著升高,比对照增加了51.9%,这可能是两者耐盐性差异的原因之一。外源钙处理对山水SOD活性影响很少,未达到显著性差异,而加 CaCl_2 5 mmol/L、10 mmol/L下格福SOD活性分别比盐处理增加了25.5%和17.2%。

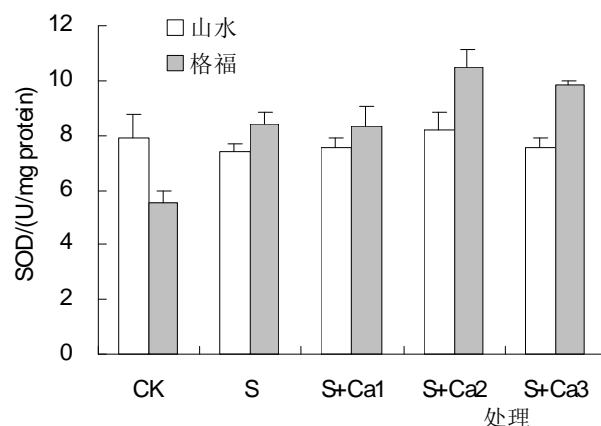


图2 外源钙对盐胁迫下西兰花叶片SOD活性的影响

从图3可以看出,盐胁迫下西兰花POD活性均有不同程度的升高,盐敏感型品种山水的POD活性增幅比耐盐型品种格福升幅要高,其中山水的POD活性增幅为140.3%,而格福仅为45.2%。在外源钙处理下,两个品种表现基本一致,在2.5~5 mmol/L CaCl_2 处理下,POD活性会下降,而在10 mmol/L CaCl_2 处理时,POD活性又会升高。

盐胁迫下西兰花CAT活性明显升高,与POD活性的变化类似(见图4)。在外源钙处理下,山水CAT活性随着钙水平的提高有逐渐降低的趋势,在5~10 mmol/L CaCl_2 处理下,CAT活性比盐处理明显降低,分别降低了26.9%与24.9%,而格福CAT活性则无明显差异。

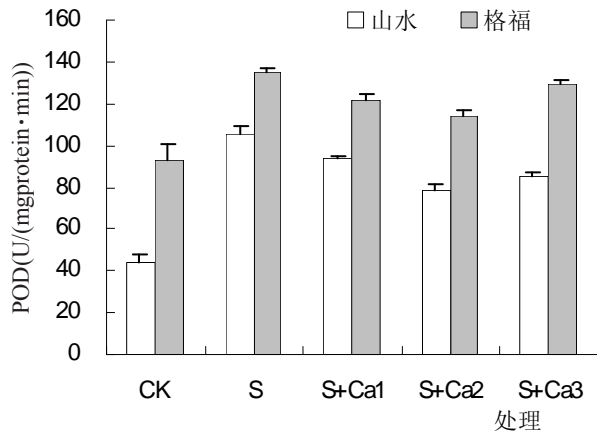


图3 外源钙对盐胁迫下西兰花叶片 POD 活性的影响

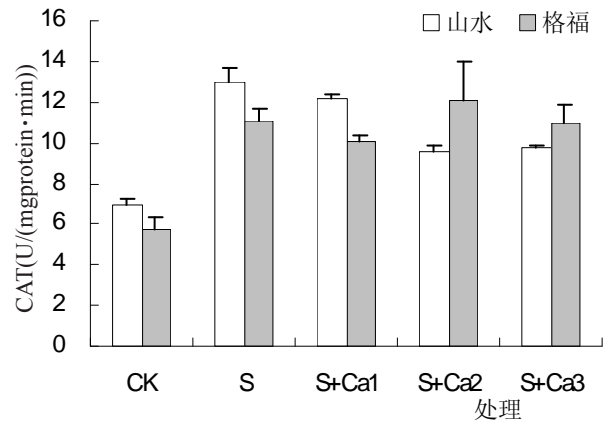


图4 外源钙对盐胁迫下西兰花叶片 CAT 活性的影响

2.4 外源钙对盐胁迫下西兰花离子吸收的影响

Cramer 等研究表明: 盐胁迫下植株体内 K^+ 、 Ca^{2+} 等元素含量下降, 这一方面是由于外界高浓度 Na^+ 显著降低了 K^+ 、 Ca^{2+} 等离子活度, 另一方面是由于具有高度活性的单价离子 (Na^+ 、 Cl^- 等) 竞争一些必需营养元素在膜上的运转位点^[13]。从表2可以看出, 盐胁迫下西兰花地上部、地下部 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 含量均比对照显著降低, Na^+ 含量显著升高。以山水为例, 盐胁迫下地上部 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 含量分别比对照下降了 52.2%、41.4%、64.4%, 而 Na^+ 含量则增加了 1075.2%。格福各离子含量的变化趋势与山水基本一致, 但其 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 含量的降幅要小于山水, 分别为 43.1%、31.9%、53.0%, Na^+ 含量的增幅也要小于山水。这可能是格福

耐盐性比山水强的原因之一。加入外源钙后可以显著降低西兰花地下部、地上部 Na^+ 含量, 提高地下部 K^+ 、 Ca^{2+} 含量及地上部 Ca^{2+} 含量。山水地上部 Na^+ 含量在加 $CaCl_2$ 2.5、5、10mmol/L 下分别比盐处理下降了 18.0%、24.5%、32.2%, 而 Ca^{2+} 含量在加 $CaCl_2$ 2.5、5、10 mmol/L 下分别比盐处理增加了 17.6%、21.4%、41.2%。格福地上部 Na^+ 含量在加 $CaCl_2$ 2.5、5、10 mmol/L 下分别比盐处理下降了 15.7%、19.8%、25.5%, 而 Ca^{2+} 含量在加 $CaCl_2$ 2.5、5、10 mmol/L 下分别比盐处理增加了 12.0%、17.3%、19.7%。从这两者的数据对比可以发现, 在盐胁迫下外源钙在盐敏感型品种上施用效果要好于耐盐品种, 钙添加的浓度以 10 mmol/L 为最佳。

表2 外源钙对盐胁迫下西兰花离子含量的影响

品种	处理	地上部含量/(g/kg)				地下部含量/(g/kg)			
		K^+	Na^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	K^+	Na^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}
山水	CK	59.14a	4.62e	22.63a	6.02a	44.62a	4.67d	36.27a	12.98a
	S	28.25b	54.30a	13.26d	2.14b	23.31d	27.42a	22.41d	7.45b
	S+Ca1	27.44b	44.54b	15.59c	2.15b	26.70c	23.61b	24.39c	7.30b
	S+Ca2	25.02b	40.99c	16.10c	1.87b	27.15c	21.42c	25.70bc	6.65b
	S+Ca3	25.49b	36.84d	18.72b	1.73b	34.86b	20.23c	27.01b	6.98b
格福	CK	46.88a	4.56e	26.27a	7.26a	34.87a	4.23c	43.65a	11.31a
	S	26.66b	47.50a	17.90c	3.41b	22.64d	20.45a	28.00e	7.33b
	S+Ca1	25.34b	40.05b	20.05b	2.82c	24.60cd	20.81a	30.01d	6.77c
	S+Ca2	25.32b	38.11c	21.00b	2.78c	26.21bc	19.10a	31.25c	6.41cd
	S+Ca3	25.67b	35.38d	21.43b	2.18d	28.25b	16.10b	33.65b	6.17d

3 结论

(1) 盐胁迫显著抑制了西兰花幼苗的生长, 降低了植株地上部、地下部干重及鲜重。外源钙的添加, 可显著促进西兰花的生长, 减轻盐胁迫, 增加地上部、地下

部干重及鲜重。外源钙处理对盐敏感品种的效果要好于耐盐品种。

(2) 外源钙处理明显降低了西兰花叶片 MDA 含量, 减轻盐胁迫对叶片膜脂过氧化程度。

(3)外源钙处理会对西兰花SOD、POD、CAT活性的变化产生影响,不同耐盐品种表现不一。

(4)外源钙处理可减少西兰花地上部、地下部Na⁺的积累,增加K⁺、Ca²⁺的浓度。最佳的钙浓度为10 mmol/L。

参考文献

- [1] Liang Y C, Yang C G, Shi H H. Effects of silicon on growth and Mineral composition of barley grown under toxic levels of aluminum[J]. *Journal of Plant Nutrition*,2001,24:229-243.
- [2] 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.
- [3] 韩晓日,侯玉慧,姜琳琳,等.硅对盐胁迫下黄瓜幼苗生长和矿质元素吸收的影响[J].*土壤通报*,2006,37(6):1162-1165.
- [4] Ji B H, Zhu S Q, Jiao D M. Photochemical efficiency of PS II and membrane lipid peroxidation in leaves of Indica and Japonica rice (*Oryza sativa*) under chilling temperature and strong light stress conditions[J]. *Acta Botanica Sinica*,2002,44(2):139-146.
- [5] 陈华新,李卫军,安沙舟,等.钙对NaCl胁迫下杂交酸模幼苗叶片光抑制的减轻作用[J].*植物生理与分子生物学报*,2003,29(5):449-454.
- [6] 蔡妙珍,罗安程,林咸永,等.Ca²⁺对过量Fe胁迫下水稻保护酶活性及膜脂过氧化的影响[J].*作物学报*,2003,29(3):447-451.
- [7] Lopeza V, Sattia S M E. Calcium and potassium enhanced growth and yield of tomato under sodium chloride stress[J]. *Plant Sci.* 1996, 114:19-27.
- [8] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase in higher plants [J]. *Plant Physiology*,1977,59:309-314.
- [9] Beffa R, Martin H V, Pilet P E. *In vitro* oxidation of indoleacetic acid by soluble auxin-oxidase and peroxidases from maize root[J]. *Plant Physiology*,1990,94:485-491.
- [10] Aebi H. Catalase *in vitro*[J]. *Methods Enzymol*,1984,105:121-126.
- [11] 王学奎.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2006:192-193.
- [12] Tuna A L, Kaya C, Ashraf M. The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stress[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2007,59:172-178.
- [13] Cramer G R, Epstein E, Lauchli A. Effects of sodium potassium and calcium on salt-stress barley(II) elemental analysis[J]. *Plant Physiology*,1991,81:197-202.