

# CaCl<sub>2</sub> 对 NaCl 胁迫下酸枣苗 AsA-GSH 循环的影响

吕新民, 杨怡帆, 鲁晓燕\*, 靳娟, 白茹

(石河子大学农学院, 特色果蔬栽培生理与种质资源利用兵团重点实验室, 新疆石河子 832000)

**摘要:** 以酸枣 (*Ziziphus acidujubus* C. Y. Cheng et M. J. Liu) 水培实生幼苗为试材, 研究了 CaCl<sub>2</sub> 对 NaCl 胁迫下其根、茎、叶中抗坏血酸—谷胱甘肽循环 (AsA-GSH) 的影响。结果表明: 与对照 (日本园试配方营养液) 相比, NaCl 处理下根和叶中 AsA 含量升高, MDHAR 活性升高, APX 活性下降; 根、茎、叶中 GSH 含量升高。NaCl + CaCl<sub>2</sub> 处理与 NaCl 处理相比, 根和茎中 AsA 含量进一步升高, 叶中 AsA 含量下降, 叶中 APX 下降, 根中 MDHAR 活性进一步升高, 茎和叶中 DHAR 活性升高; 根和叶中 GSH 含量下降。外源 CaCl<sub>2</sub> 可能通过提高酸枣实生苗根、茎和叶中 AsA 再生关键酶 MDHAR 和 DHAR 活性, 促进根和茎中 AsA 的再生与生物合成, 从而提高根、茎清除过量 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的能力, 缓解 NaCl 胁迫对酸枣幼苗根和茎部的伤害。

**关键词:** 酸枣; CaCl<sub>2</sub>; NaCl 胁迫; AsA-GSH 循环

**中图分类号:** S 665.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2017) 05-0953-10

## Effects of CaCl<sub>2</sub> on the AsA-GSH Cycle of Sour Jujube Seedlings Under NaCl Stress

LÜ Xinmin, YANG Yifan, LU Xiaoyan\*, JIN Juan, and BAI Ru

(College of Agriculture, Shihezi University; Xinjiang Production and Construction Corps Key Laboratory of Special Fruits and Vegetables Cultivation Physiology and Germplasm Resources Utilization, Shihezi, Xinjiang 832000, China)

**Abstract:** A hydroponic experiment was conducted to study the effects of CaCl<sub>2</sub> on the ascorbate-glutathione (AsA-GSH) cycle in roots, stems, and leaves of sour jujube (*Ziziphus acidujubus* C. Y. Cheng et M. J. Liu) under NaCl stress. The results showed that NaCl stress significantly increased the ascorbic acid (AsA) content and monodehydroascorbate reductase (MDHAR) activity in sour jujube roots and leaves. In contrast, NaCl stress reduced the ascorbate peroxidase (APX) activity in those organs. Glutathione (GSH) content in roots, stems, and leaves were significantly greater in the NaCl treatment than in the control treatment. The addition of CaCl<sub>2</sub> to the hydroponic solution increased AsA content in shoots and stems compared with the NaCl treatment. In contrast, NaCl + CaCl<sub>2</sub> reduced AsA concentrations and APX activity in leaves. The NaCl + CaCl<sub>2</sub> treatment also significantly increased MDHAR activity in roots and DHAR activity in leaves and stem. The GSH content in roots and leaves was less in the NaCl + CaCl<sub>2</sub>

**收稿日期:** 2016-12-05; **修回日期:** 2017-04-24

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (31460057); 石河子大学博士基金项目 (RCZX200908)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: lxysz@126.com; Tel: 18999538195)

treatment than in the NaCl treatment. In conclusion, exogenous CaCl<sub>2</sub> improved AsA regeneration in sour jujube roots and stems by increasing the MDHAR and DHAR activities in roots, stems, and leaves. The CaCl<sub>2</sub> also promoted AsA synthesis in sour jujube stems and roots. The CaCl<sub>2</sub> improved the ability of sour jujube seedlings under NaCl stress to eliminate hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) by increasing AsA content in roots and stems.

**Keywords:** sour jujube; CaCl<sub>2</sub>; NaCl stress; AsA-GSH cycle

新疆现有耕地约 30%受到盐碱危害(田长彦等, 2000)。盐胁迫下植物体内活性氧增加, 会对植株造成伤害。植物中存在酶促和非酶促两大类保护系统, 以减轻或避免活性氧对细胞造成伤害(Smirnoff, 1993; Asada, 1999; Shigeoka et al., 2002)。非酶促机制中直接参与活性氧清除的抗氧化物有抗坏血酸(ascorbic acid, AsA)和谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)等(Arora et al., 2002; Blokhina et al., 2003; Smirnoof, 2005)。抗坏血酸—谷胱甘肽(AsA-GSH)循环系统主要包含抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)、谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)、单脱氢抗坏血酸还原酶(monodehydroascorbate reductase, MDHAR)、脱氢抗坏血酸还原酶(dehydroascorbate reductase, DHAR) 4种抗氧化酶和还原型抗坏血酸(ascorbic acid, AsA), 还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH) 2种抗氧化剂(Maruta et al., 2010)。在AsA-GSH循环系统中, AsA在APX的作用下与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>反应, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>接受还原型辅酶II(nicotinamide adenosine denucleotide hydro-phosphoric acid, NADPH)的电子还原成H<sub>2</sub>O(Smirnoof & Wheeler, 2000), 同时被氧化形成单脱氢抗坏血酸(monodehydroascorbic acid, MDHA)和脱氢抗坏血酸(DHA), 二者在DHAR和MDHAR作用下重新还原成AsA(Yin et al., 2010)。GR是维持AsA-GSH循环有效运行的关键酶之一。GSH除参与AsA-GSH循环外还可直接参与自由基反应, 并由GSH转变成氧化型谷胱甘肽GSSG(Jin et al., 2003)。

钙对维持细胞膜选择透性(Amor et al., 2010)、离子运输(Zhu, 2002)、信号转导(Mcainsh et al., 1996)、酶活性调控等有重要作用。Ca处理能提高植物对高温(Gong et al., 1997, 1998)、低温(Nayyar & Kaushal, 2002)、弱光(毕焕改等, 2015)、干旱(贾虎森等, 2000)和镉胁迫(李贺等, 2015)等逆境的适应能力。关于外源钙调节盐胁迫下植物体内抗氧化酶活性, 缓解盐胁迫已在滨海卡克勒(Amor et al., 2010)、亚麻(Khan & Siddique, 2010)、唐古特白刺(袁晓婷等, 2014)和荞麦(陈晓云等, 2012)等多种植物中有报道。

2015年新疆枣面积已达到 $4.8 \times 10^5$  hm<sup>2</sup>, 年产量 $2.5 \times 10^6$  t(新疆维吾尔自治区统计局, 2015)。酸枣(*Ziziphus acidujuba* C. Y. Cheng et M. J. Liu)具有抗干旱、耐盐碱的特性, 是枣的优良砧木(刘孟军和汪民, 2009)。新疆是中国枣的优生区(周丽等, 2015), 目前新疆栽培的枣树绝大多数都是以酸枣为砧木。

本课题组前期试验中发现, 在NaCl浓度梯度处理中, 150 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl处理, 酸枣叶片萎蔫明显, 叶片中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>大量积累(靳娟等, 2015), 并发现CaCl<sub>2</sub>可显著降低NaCl胁迫下酸枣实生幼苗的细胞膜透性和MDA含量, 提高3种抗氧化酶(SOD、POD、CAT)活性及其基因的表达量, 减缓NaCl胁迫的伤害(王策, 2014; 杨怡帆等, 2016a)。在前期基础(吕新民等, 2016)上, 研究CaCl<sub>2</sub>对NaCl胁迫下酸枣实生苗不同器官APX、GR、MDHAR、DHAR酶活性和非酶物质AsA、GSH含量的影响, 从AsA-GSH循环的角度探索CaCl<sub>2</sub>缓解酸枣盐胁迫的可能作用方式。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与处理

试验于2015年5—7月在石河子大学农学院进行。挑选大小一致饱满的酸枣种子, 室温下清水浸泡催芽, 待长出2片真叶后进入光照培养。光照强度 $0.15\text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 光照时间14 h, 黑暗时间10 h; 保持相对湿度65%~70%、温度25~28℃。选择长势一致的实生苗用厚2 cm泡沫板悬浮于水培盒中, 水培盒大小为 $19\text{ cm}\times 13\text{ cm}\times 11\text{ cm}$ (长×宽×高)。每个水培盒加1倍日本园试配方营养液(郭世荣, 2003)500 mL, 每3 d更换一次营养液。实生苗长到6片真叶时开始分别处理。

在营养液基础上进行4种处理:(1)对照, 不加任何物质;(2)Ca处理, 加入 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  CaCl<sub>2</sub>;(3)Na处理, 加入 $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl;(4)Na+Ca处理, 加入 $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl和 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  CaCl<sub>2</sub>。每个处理45株苗, 重复3次。为避免植物盐激反应, Na和Na+Ca处理中NaCl浓度以每天 $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的梯度逐步递增, 全部处理于同一天达到目标浓度(设此时为NaCl处理0 d)。根据前期研究结果, 处理6 d时酸枣水培实生苗受到盐胁迫伤害较为明显(王策, 2014), 所以于处理后6 d时一次性进行取样。样品用清水冲洗表面杂物, 再用去离子水冲洗干净, 用吸水纸吸干表面水分。将每个重复的15株幼苗全部根、茎和叶片分别混合后各称取0.3 g, 用锡纸包好后迅速投入液氮中冷冻, 于-80℃冰箱保存。

### 1.2 测定项目及方法

抗氧化物质测定: 0.3 g酸枣实生苗根、茎和叶, 分别加入5 mL预冷的5%磺基水杨酸, 冰浴研磨, 4℃条件下 $14\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心25 min, 取上清液。还原型抗坏血酸(AsA)、氧化型抗坏血酸(DHA)含量测定采用二联吡啶法(Jiang & Zhang, 2001); 氧化型谷胱甘肽(GSSG)、还原型谷胱甘肽(GSH)含量测定采用Nagalakshmi和Prasad(2001)的DTNB检测法。

抗氧化酶活性测定: 分别称取0.3 g样品, 用2 mL 6%的偏磷酸冰浴研磨, 4℃,  $12\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心20 min, 取上清液待测定。抗坏血酸过氧化物酶(APX)、脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)以及谷胱甘肽还原酶(GR)活性的测定参考Nakano和Asada(1981)的方法, 单脱氢抗坏血酸还原酶(MDHAR)活性的测定参考Krivosheeva等(1996)的方法。

采用Microsoft Excel 2010软件进行数据处理和作图, 利用SPSS 19.0软件进行差异显著性分析( $P<0.05$ ), 邓肯氏法进行多重比较检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 CaCl<sub>2</sub>对NaCl胁迫下酸枣AsA及其代谢酶活性的影响

#### 2.1.1 AsA和DHA含量的变化

由图1可见, 与对照相比, Na处理下酸枣实生苗根和叶中AsA含量显著升高, 分别是对照的2.0和1.8倍, 茎中无显著变化; 与Na处理相比, Na+Ca处理下根、茎中AsA含量显著上升, 分别是Na处理的1.2和1.5倍, 叶中显著降低, 是Na处理的62.3%。由此可知, 营养液中加入CaCl<sub>2</sub>能够提高NaCl胁迫下酸枣实生苗根和茎中AsA含量。

植物AsA-GSH循环中, AsA在APX的作用下被H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>氧化形成DHA或MDHA。由图1可知,

在 Na 处理下, 酸枣实生苗茎和叶中 DHA 含量显著高于对照, 分别是对照的 7.5 和 2.7 倍, 根中 DHA 含量无显著变化。与 Na 处理相比, Na + Ca 处理下, 根、茎中 DHA 含量无显著变化, 叶中显著降低, 是 Na 处理的 42.1%。Na + Ca 处理下, 根和茎中 DHA 含量没有显著变化, 而叶中显著下降, 可能是因为加入 CaCl<sub>2</sub> 降低了叶片中 AsA 含量, 因而生成物的 DHA 也相应减少。

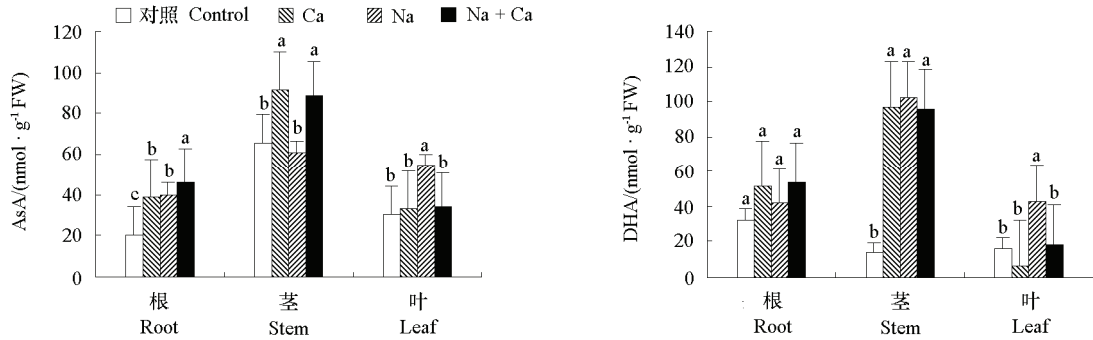


图1 CaCl<sub>2</sub> 处理对酸枣不同器官 AsA 和 DHA 含量的影响

基本培养液为日本园试配方营养液。对照: 无添加; Ca: 10 mmol · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>; Na: 150 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl; Na + Ca: 150 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl + 10 mmol · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>。不同字母表示相同器官不同处理间差异显著 (P < 0.05, n = 3)。下同。

Fig. 1 Effect of CaCl<sub>2</sub> treatment on AsA and DHA content in different organs of sour jujube seedlings

Nutrient solution. Control: Nutrient solution with no add; Ca: 10 mmol · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>; Na: 150 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl; Na + Ca: 150 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl + 10 mmol · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>. The different letters mean significant difference in different treatment of same organ at P < 0.05 level (n = 3). The same below.

2.1.2 APX、MDHAR 和 DHAR 活性的变化

由图 2 可知, 与对照相比, Na 处理下酸枣实生苗根、茎、叶中 APX 活性显著降低, 分别是对照的 25.1%、23.4%和 60.8%。与 Na 处理相比, Na + Ca 处理下酸枣实生苗根、茎中 APX 活性无显

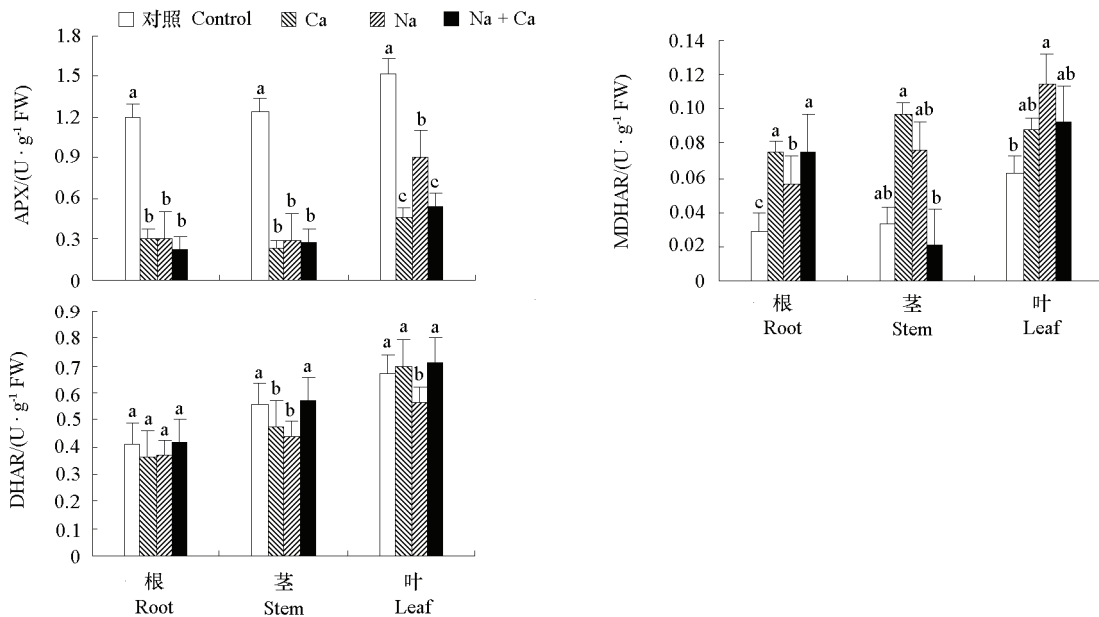


图2 CaCl<sub>2</sub> 处理对酸枣不同器官 APX、MDHAR 和 DHAR 活性的影响

Fig. 2 Effect of CaCl<sub>2</sub> treatment on APX, MDHAR and DHAR activity in different organs of sour jujube seedlings

著变化; 叶中 APX 活性显著降低, 是 Na 处理的 59.7%。

MDHAR 和 DHAR 是 AsA-GSH 循环中再生 AsA 的两个重要酶, AsA 被氧化形成 MDHA, MDHA 在 MDHAR 的作用下再生成 AsA, 或通过非酶促歧化形成 DHA, 在 DHAR 参与下 DHA 可以再生形成 AsA (Smirnoff, 1996)。由图 2 可见, 与对照相比, Na 处理下酸枣实生苗根和叶中 MDHAR 活性显著升高, 分别是对照的 2.0 倍和 1.8 倍, 茎中无显著变化。与 Na 处理相比, Na + Ca 处理下酸枣实生苗根中 MDHAR 活性显著升高, 是 Na 处理的 1.3 倍, 茎和叶中无显著变化。可见, 加入 CaCl<sub>2</sub> 提高了 NaCl 胁迫下酸枣实生苗根中 MDHAR 活性, 有利于根部 MDHA 还原为 AsA。

与对照相比, 各处理下酸枣实生苗根中 DHAR 活性无显著变化; 在茎和叶中, Na 处理下均显著降低, 分别是对照的 78.4%和 84.7%。与 Na 处理相比, Na + Ca 处理下根中 DHAR 活性无显著变化; 在茎和叶中显著升高, 均是 Na 处理的 1.3 倍(图 2)。可见, 加入缓解剂 CaCl<sub>2</sub> 能够提高 NaCl 胁迫下酸枣实生苗茎和叶中 DHAR 活性, 有利于酸枣茎和叶内 AsA-GSH 循环中 DHA 被还原为 AsA。

## 2.2 CaCl<sub>2</sub> 对 NaCl 胁迫下酸枣 GSH 及其代谢酶活性的影响

### 2.2.1 GSH、GSSG 含量的变化

GSH 是 AsA-GSH 循环系统中重要的抗氧化剂, GSH 可直接与活性氧自由基反应, 并由 GSH 转变为 GSSG, GR 利用 NADPH 的电子将 GSSG 还原为 GSH, 从而使细胞内谷胱甘肽库保持在还原状态, 增强植物对逆境的抵抗力。由图 3 可知, 与对照相比, Na 处理下酸枣实生苗根、茎、叶中 GSH 含量均显著升高, 分别是对照的 1.3、1.1 和 1.6 倍; 与 Na 处理相比, Na + Ca 处理下酸枣实生苗根和叶中 GSH 显著下降, 茎中无显著变化。

各处理下酸枣实生苗根、茎、叶中 GSSG 含量均无显著变化。与 Na 处理相比, Na + Ca 处理下酸枣实生苗根、茎、叶中 GSSG 含量无显著差异。初步推测由于植物应激性, 酸枣实生苗受到 NaCl 胁迫后根、茎、叶中 GSH 合成增加, 但 GSSG 没有显著变化, 表明少量 GSH 氧化产生的 GSSG 可及时被 GR 还原为 GSH, GSSG 生成与消耗处于动态平衡。

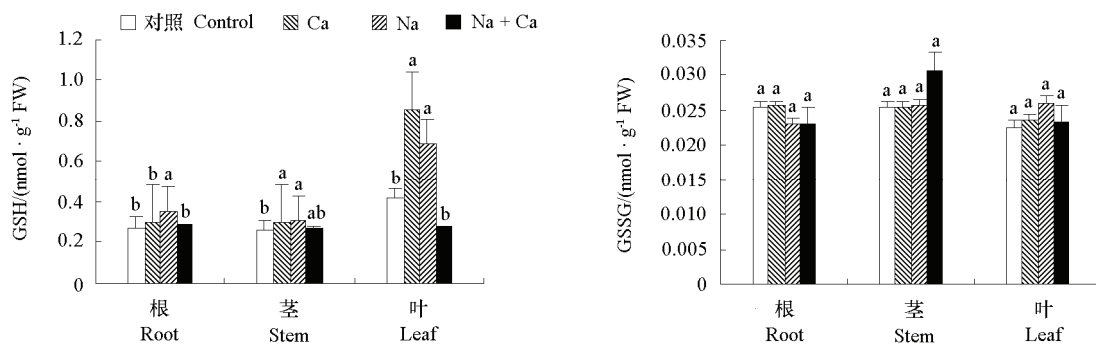


图 3 CaCl<sub>2</sub> 处理对酸枣不同器官 GSH 和 GSSG 含量的影响

Fig. 3 Effect of CaCl<sub>2</sub> treatment on GSH and GSSG content in different organs of sour jujube seedlings

### 2.2.2 GR 活性的变化

与对照相比, Na 处理下酸枣幼苗茎和叶中 GR 活性均显著升高, 分别是对照的 3.7 倍和 6.4 倍; 根中 GR 活性无显著变化。与 Na 处理相比, Na + Ca 处理下酸枣幼苗根中 GR 活性显著升高, 是

Na 处理的 2.0 倍；茎、叶中 GR 活性无显著变化（图 4）。可知，CaCl<sub>2</sub> 能够显著提高 NaCl 胁迫下酸枣实生苗根中 GR 活性，提高了 GSH/GSSG 在根中的相互转化效率。

### 2.3 酸枣 AsA/DHA 和 GSH/GSSG 的变化

在 AsA-GSH 循环中，AsA 含量、氧化还原状态（AsA/DHA）比值与抗逆性呈正相关（Gallie, 2013）。由图 5 可知，与对照相比，不同处理下酸枣实生苗根中 AsA/DHA 比值无显著变化，茎中在 Na 处理下显著降低，是对照的 11.4%，叶中无显著变化。与 Na 处理相比，Na + Ca 处理下根和茎中 AsA/DHA 比值无显著变化，叶中 AsA/DHA 显著上升，是 Na 处理的 2.6 倍。NaCl 胁迫后加入 CaCl<sub>2</sub> 能够显著提高酸枣实生苗叶片中 AsA/DHA 比值。

植物细胞内 GSH/GSSG 比值的高低是评价 AsA-GSH 循环运行效率高的重要因素。与对照相比，各处理下酸枣实生苗根中 GSH/GSSG 比值无显著变化。茎中 Na 处理是对照的 1.3 倍，叶中 Ca 处理是对照的 2.0 倍，叶中 Na 处理无显著变化。与 Na 处理相比，Na + Ca 处理下酸枣实生苗根中 GSH/GSSG 比值无显著变化；茎和叶中显著下降，分别是对照的 75.3% 和 45.1%。表明加入 CaCl<sub>2</sub> 后，酸枣幼苗茎和叶中 GSH 与 GSSG 相互转化效率有所下降。

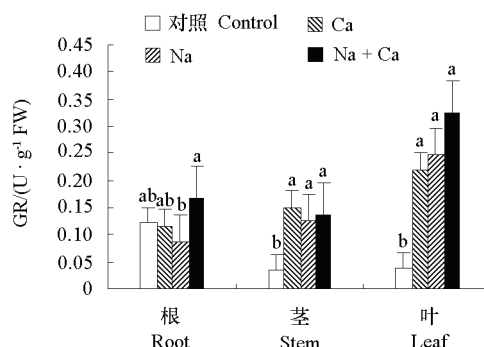


图 4 CaCl<sub>2</sub> 处理对酸枣不同器官 GR 活性的影响  
Fig. 4 Effect of CaCl<sub>2</sub> treatment on GR activity in different organs of sour jujube seedlings

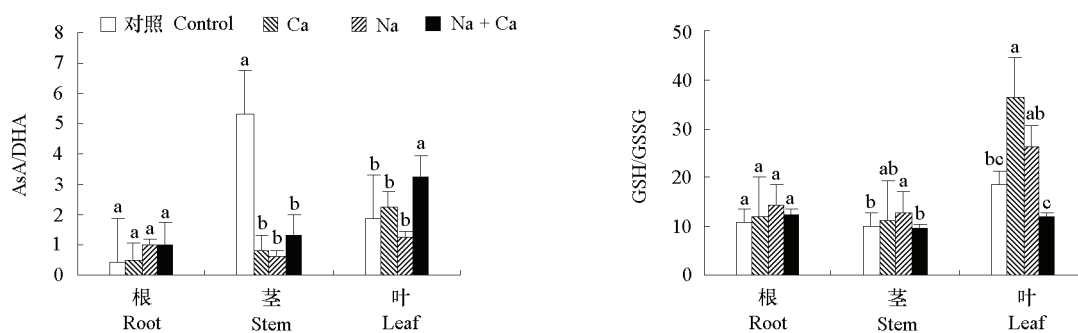


图 5 CaCl<sub>2</sub> 处理对酸枣不同器官 AsA/DHA 和 GSH/GSSG 比值的影响  
Fig. 5 Effects of CaCl<sub>2</sub> treatment on AsA/DHA and GSH/GSSG in different organs of sour jujube seedlings

## 3 讨论

### 3.1 CaCl<sub>2</sub> 对 NaCl 胁迫下酸枣实生苗 AsA 循环的影响

前人研究表明，植物体内产生的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 主要在 AsA-GSH 循环中被清除 (Foyer & Halliwell, 1976)，AsA 和 GSH 是植物 AsA-GSH 循环中重要的抗氧化剂和氧化还原势调节剂，直接清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 修复自由基造成的伤害，防止逆境造成的膜脂过氧化伤害 (Sorkheh et al., 2012)。朱晓军 (2004) 研究发现，盐胁迫导致水稻实生苗叶片抗氧化剂 AsA 含量的减少，加入外源 Ca<sup>2+</sup> 后，AsA 含量有一定程度

的增加。本试验结果表明, NaCl胁迫显著增加了酸枣实生苗根和叶中AsA含量, 与水稻研究结果不同, 说明150 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl胁迫下酸枣实生幼苗较水稻实生苗能更有效地通过提高根和叶部AsA含量来清除NaCl胁迫产生的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。加入CaCl<sub>2</sub>后酸枣幼苗根中MDHAR、茎中DHAR活性显著升高, 表明Ca能提高NaCl胁迫下酸枣幼苗根和茎中AsA再生关键酶的活性, 有利于AsA的再生, 使AsA的消耗与再生处于动态平衡之中; 但根、茎中作为AsA清除H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>生成物的DHA含量无显著变化, 表明反应底物AsA积累量大于消耗量, 推测Ca还可能同时通过提高酸枣幼苗根、茎中AsA合成与AsA-GSH循环中AsA的再生来进一步增加NaCl胁迫下酸枣幼苗根和茎中AsA的积累。Ca能提高NaCl胁迫下酸枣实生苗根和茎中抗氧化剂AsA的生成, 可能与钙在植物响应盐胁迫的信号转导过程中充当信使有关(Yokoi et al., 2002)。植物受到盐胁迫引起的离子不平衡是通过钙参与SOS途径和钙调磷酸激酶途径进行响应(Zhu, 2001)。Ca<sup>2+</sup>通过多个通路调控基因的表达对盐胁迫进行响应, 如Ca<sup>2+</sup>依赖蛋白激酶(CDPKs)的直接磷酸化和去磷酸化改变酶活性或间接的修饰转录机制, 最终改变基因的表达模式来达到适应盐胁迫的目的(Mehlmer et al., 2010)。本课题组前期研究发现, Ca能够通过提高NaCl胁迫下酸枣幼苗叶中SOD、POD和CAT 3种抗氧化酶基因的表达, 从而提高这3种抗氧化酶的活性, 清除过量的活性氧(王策, 2014)。叶绿体被认为是植物体内活性氧的最主要的来源和发生部位(Cheeseman, 1988), 而NaCl胁迫下植物细胞内活性氧浓度的提高使活性氧产生与清除之间的动态平衡被破坏(Shalata & Tal, 1998), 导致细胞进一步受到伤害。本试验中发现, NaCl胁迫下加入CaCl<sub>2</sub>后酸枣实生幼苗叶中AsA、DHA含量下降, MDHAR活性升高, 表明Ca能够提高NaCl胁迫下酸枣幼苗叶中MDHAR活性, 有利于叶中AsA的再生, 但此时加入CaCl<sub>2</sub>反而使叶片中AsA含量下降, 可能是因为细胞本身受到严重的氧化胁迫后再加入Ca就会导致细胞内钙离子超载刺激氧自由基的生成(Duchen, 2000), 使酸枣叶片中AsA合成途径受到破坏导致叶中AsA含量下降, DHA含量随着下降。

在逆境条件下, APX能够清除正常和胁迫条件下植物体内过量H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(Tanaka et al., 1991), 其活性也标志着细胞对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>清除能力的大小。AsA在清除H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>时被氧化, 作为AsA再生的MDHAR和DHAR活性也相应提高。徐臣善(2014)报道, NaCl胁迫下小金海棠实生苗生长受到抑制, APX活性显著升高, 营养液加Ca能够进一步提高小金海棠APX活性。本试验中, NaCl胁迫导致酸枣实生苗根、茎和叶中APX活性下降。作为信号分子行使功能的活性氧主要是(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), 它在低浓度下行使第二信使功能(Greenberg, 1996), 作为信号分子, 在逆境胁迫初期, 活性氧水平, 特别是H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的增加是必要的, 因此, 逆境会迅速引发细胞内叶绿体、线粒体、过氧化物体和质外体中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的产生, 并同时抑制抗氧化酶APX的活性。这可能是NaCl胁迫下酸枣实生苗各器官中APX活性下降的原因之一。本课题组前期研究发现, 随着NaCl胁迫时间的延长, 酸枣实生苗叶片H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>积累增多, 而加CaCl<sub>2</sub>可以减少H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>积累, 表明加入CaCl<sub>2</sub>能提高细胞内抗氧化酶SOD、CAT活性, 使H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>很快被清除, 缓解膜质过氧化作用(杨怡帆等, 2016a, 2016b)。APX对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>有较高的亲和力, 能消除低浓度的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。NaCl胁迫下酸枣实生苗各器官中APX活性降低, 可能是因为NaCl胁迫下产生高浓度H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 酸枣实生苗中APX本身对胁迫敏感, 加入CaCl<sub>2</sub>后可能造成细胞内钙离子超载进一步刺激氧自由基生成, 酸枣实生苗叶片中APX活性进一步下降。

### 3.2 CaCl<sub>2</sub>对NaCl胁迫下酸枣实生苗GSH循环的影响

陈贵林和贾开志(2005)的研究表明, Ca<sup>2+</sup>处理提高了高温胁迫下茄子实生苗GSH含量。本试验中发现, NaCl胁迫下酸枣实生苗各器官中GSH含量与对照相比均显著升高, GSSG含量无显著变化, 这表明, GSH含量的升高可能是由于GSH的合成增加。加入CaCl<sub>2</sub>后, 酸枣实生苗根和叶

中 GSH 含量与 Na 处理相比显著下降, 这与 GSH/GSSG 比值变化趋势相同, 表明加入 CaCl<sub>2</sub> 后酸枣实生苗根和叶中 GSH 合成量减少, GSH/GSSG 相互转化效率减弱。可能有以下两个原因: 第一是植物细胞内 GSH 氧化还原水平的高低主要取决于其合成、利用、降解过程以及 GSH 和 GSSG 之间的相互转化和运输。同时, GSSG 对 GSH 有一定的协同作用, 二者在细胞内的含量以及 GSH/GSSG 的比值决定它们氧化还原调节能力的大小, 当 GSH/GSSG 大于 50 时, 细胞主要靠 GSH 清除自由基, 且自由基的清除量与 GSH 浓度成正相关 (金春英 等, 2009)。由本研究结果可知, 不同处理下, 酸枣实生苗根、茎和叶中 GSH/GSSG 均在 50 以下, 表明 NaCl 胁迫或加入 CaCl<sub>2</sub> 后对酸枣实生苗细胞中 GSH 清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 过程产生不利影响。第二是细胞内钙离子超载会刺激氧自由基的生成 (Duchen, 2000), 过多的氧自由基可能会抑制 GSH 的生成, 导致加入 CaCl<sub>2</sub> 后各器官中 GSH 有所下降。

外源 CaCl<sub>2</sub> 可能通过提高酸枣实生苗根、茎和叶中 AsA 再生关键酶 MDHAR 和 DHAR 活性, 促进根和茎中 AsA 的再生, 从而提高根、茎中 AsA 含量, 起到清除过量 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 缓解 NaCl 胁迫对酸枣幼苗根和茎的伤害。

## References

- Amor N B, Megdiche W, Jimenez A, Sevilla F, Abdely C. 2010. The effect of calcium on the antioxidant systems in the halophyte *Cakile maritima* under salt stress. *Acta Physiol Plant*, 32: 453 - 461.
- Arora A, Sairam R K, Srivastava G C. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science*, 82: 1227 - 1238.
- Asada K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50: 601 - 639.
- Bi Huan-gai, Dong Xu-bing, Wang Mei-ling, Ai Xi-zhen. 2015. Foliar spray calcium and salicylic acid improve the activities and gene expression of photosynthetic enzymes in cucumber seedlings under low intensity and suboptimal temperature. *Acta Horticulturae Sinica*, 42 (1): 56 - 64. (in Chinese)
- 毕焕改, 董绪兵, 王美玲, 艾希珍. 2015. 钙和水杨酸对亚适温弱光下黄瓜实生苗光合酶活性和基因表达的影响. *园艺学报*, 42 (1): 56 - 64.
- Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt K V. 2003. Antioxidant, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, 91: 179 - 194.
- Cheeseman J M. 1988. Mechanism of salinity tolerance in plants. *Plant Physiol*, 87: 547 - 550.
- Chen Gui-lin, Jia Kai-zhi. 2005. Effects of calcium and calmodulin antagonist on antioxidant systems of eggplant seedlings under high temperature stress. *Scientia Agricultura Sinica*, 38 (1): 197 - 202. (in Chinese)
- 陈贵林, 贾开志. 2005. 钙和钙调素拮抗剂对高温胁迫下茄子实生苗抗氧化系统的影响. *中国农业科学*, 38 (1): 197 - 202.
- Chen Xiao-yun, Liu Hong-qing, Li Fa-liang, Su Li-ping, Yang Hong-bing. 2012. Effects of exogenous sucrose and Ca<sup>2+</sup> on salt tolerance of buckwheat seedlings. *J Plant Physiol*, 48 (12): 1197 - 1192. (in Chinese)
- 陈晓云, 刘洪庆, 李发良, 苏丽萍, 杨洪兵. 2012. 外源蔗糖和 Ca<sup>2+</sup> 对荞麦实生苗耐盐性的影响. *植物生理学报*, 48 (12): 1197 - 1192.
- Duchen M R. 2000. Mitochondria and calcium: from cell signaling to cell death. *J Physiol*, 529: 57 - 68.
- Foyer C H, Halliwell B. 1976. Presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, 133: 21 - 25.
- Gallie D R. 2013. The role of L-ascorbic acid recycling in responding to environmental stress and in promoting plant growth. *J Exp Bot*, 64: 433 - 443.
- Gong M, Chen S N, Song Y Q, Li Z G. 1997. Effect of calcium and calmodulin on intrinsic heat tolerance in relation to antioxidant systems in maize seedlings. *Australian Journal of Plant Physiology*, 24: 371 - 379.
- Gong M, Van A H, Trewavas A J, Knight M R. 1998. Heat-shock induced changes in intracellular Ca<sup>2+</sup> level in tobacco seedlings in relation to thermotolerance. *Plant Physiology*, 116: 429 - 437.
- Greenberg J T. 1996. Programmed cell death: a way of life for plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93: 12094 - 12097.



- Guo Shi-rong. 2003. Soilless culture. Beijing: China Agricultural Publishing House: 87-90. (in Chinese)
- 郭世荣. 2003. 无土栽培学. 北京: 中国农业出版社: 87-90.
- Jia Hu-sen, Cai Shi-ying, Li De-quan, Han Ya-qin. 2000. Effects on photosynthesis of mango seedlings treated with calcium under soil drying stress. *Journal of Fruit Science*, 17: 52-56. (in Chinese)
- 贾虎森, 蔡世英, 李德全, 韩亚琴. 2000. 土壤干旱胁迫下钙处理对芒果实生苗光合作用的影响. *果树科学*, 17: 52-56.
- Jiang M Y, Zhang J H. 2001. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Plant Cell Physiology*, 42: 1265-1273.
- Jin Chun-ying, Cui Jing-lan, Cui Sheng-yun. 2009. Synergetic effect by oxidized glutathione for radical scavenging activities of reduced glutathione. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 9: 1349-1353. (in Chinese)
- 金春英, 崔京兰, 崔胜云. 2009. 氧化型谷胱甘肽对还原型谷胱甘肽清除自由基的协同作用. *分析化学*, 9: 1349-1353.
- Jin Juan, Wang Yi, Lu Xiao-yan, Lin Hai-rong, Cui Hui-mei. 2015. Effects of NaCl stress on ion absorption and distribution in sour jujube seedlings. *Acta Horticulturae Sinica*, 42(5): 853-862. (in Chinese)
- 靳娟, 王依, 鲁晓燕, 林海荣, 崔辉梅. 2015. NaCl胁迫对酸枣实生苗离子吸收与分配的影响. *园艺学报*, 42(5): 853-862.
- Jin Y H, Tao D L, Hao Z Q, Ye J, Du Y J, Liu H L, Zhou Y B. 2003. Environmental stresses and redox status of ascorbate. *Acta Botanica Sinica*, 45: 795-801.
- Khan M N, Siddique M H. 2010. Calcium chloride and gibberellic acid protect linseed (*Linum usitatissimum* L.) from NaCl stress by inducing antioxidative defence system and osmoprotectant accumulation. *Acta Physiol Plant*, 32: 121-132.
- Krivoshcheva A, Tao D L, Ottander C, Wingsle G, Dube S L, Oquist G. 1996. Cold acclimation and photoinhibition of photosynthesis in Scots pine. *Planta*, 200: 296-305.
- Li He, Sun Ya-li, Liu Shi-qi, Guo Hui-ping, Lian Hai-feng, Yu Xin-hui, Shi Qing-hua. 2015. Effects of Exogenous calcium on physiological characteristics and qualities of garlic under cadmium stress. *Acta Horticulturae Sinica*, 42(2): 377-385. (in Chinese)
- 李贺, 孙亚丽, 刘世奇, 郭会平, 连海峰, 于新会, 史庆华. 2015. 增施钙对镉胁迫下大蒜生理特性及品质的影响. *园艺学报*, 42(2): 377-385.
- Liu Meng-jun, Wang Min. 2009. Germplasm resources of Chinese jujube. Beijing: China Forestry Publishing House: 41-45. (in Chinese)
- 刘孟军, 汪民. 2009. 中国枣种质资源. 北京: 中国林业出版社: 41-45.
- Lü Xin-min, Yang Yi-fan, Lu Xiao-yan, Jin Juan, Fan Xin-min. 2016. Effects of NaCl stress on the AsA-GSH cycle in sour jujube seedlings. *Plant Physiology Journal*, 52(5): 736-744. (in Chinese)
- 吕新民, 杨怡帆, 鲁晓燕, 靳娟, 樊新民. 2016. NaCl胁迫对酸枣幼苗AsA-GSH循环的影响. *植物生理学报*, 52(5): 736-744.
- Maruta T, Tanouchi A, Tamoi M, Yabuta Y, Yoshimura K, Ishikawa T, Shigeoka S. 2010. *Arabidopsis* chloro-plastic ascorbate peroxidase isoenzymes play a dual role in photoprotection and gene regulation under photooxidative stress. *Plant Cell Physiol*, 51: 190-200.
- Mcaish M R, Clayton H, Mansfield T A, Hetherington A M. 1996. Changes in stomatal behavior and guard cell cytosolic free calcium in response to oxidative stress. *Plant Physiol*, 111: 1031-1042.
- Mehlmer N, Wurzinqer B, Stael S, Hofmann-Rodrigues D, Cszaszar E, Pfister B, Bayer R, Teiqe M. 2010. The Ca<sup>2+</sup>-dependent protein kinase CPK3 is required for MAPK-independent salt-stress acclimation in *Arabidopsis*. *Plant J*, 63: 484-498.
- Nagalakshmi N, Prasad M N V. 2001. Responses of glutathione cycle enzymes and glutathione metabolism to copper stress in *Scenedesmus hijugatus*. *Plant Science*, 160: 291-299.
- Nakano Y, Asada K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, 22: 867-880.
- Nayyar H, Kaushal S K. 2002. Chilling induced oxidative stress in germinating wheat grains as effected by water stress and calcium. *Biologia Plantarum*, 45: 601-604.
- Shalata A, Tal M. 1998. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in the leaf of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii*. *Physiol Plant*, 104: 169-174.
- Shigeoka S, Ishikawa T, Tamoi M, Miyagawa Y, Takeda T, Yabuta Y, Yoshimura K. 2002. Regulation and function of ascorbate peroxidase

- isoenzymes. *Journal of Experimental Botany*, 53: 1305 - 1319.
- Smirnoff N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist*, 125: 27 - 58.
- Smirnoff N. 1996. The function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Ann Bot*, 78: 661 - 669.
- Smirnoff N, Wheeler G L. 2000. Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. *Critic Rev Biochem Mol Biol*, 35: 291 - 314.
- Smirnoff N. 2005. Antioxidants and reactive oxygen species in plants. Oxford: Blackwell Publishing.
- Sorkheh K, Shiran B, Rouhi V, Khodambashi M, Sofo A. 2012. Salt stress induction of some key antioxidant enzymes and metabolites in eight Iranian wild almond species. *Acta Physiol Plant*, 34: 203 - 213.
- Tanaka K, Takeuchi E, Kubo A, Sakaki T, Haraguchi K, Kawamura Y. 1991. Two immunologically different isozymes of ascorbate peroxidase from spinach leaves. *Arch Biochem Biophys*, 286: 371 - 375.
- Tian Chang-yan, Zhou Hong-fei, Liu Guo-qing. 2000. The proposal on control of soil salinizing and agricultural sustaining development in 21s century in Xinjiang. *Arid Land Geo*, 23: 178 - 180. (in Chinese)
- 田长彦, 周宏飞, 刘国庆. 2000. 21 世纪新疆土壤盐渍化调控与农业持续发展研究建议. *干旱区地理*, 23: 177 - 180.
- Wang Ce. 2014. The alleviation Effect of CaCl<sub>2</sub> on NaCl stress in *Ziziphus jujuba* Hu [M. D. Dissertation]. Shihezi: Shihezi University. (in Chinese)
- 王 策. 2014. CaCl<sub>2</sub> 对酸枣 NaCl 胁迫的缓解效应研究[硕士论文]. 石河子: 石河子大学.
- Xinjiang Uygur Autonomous Region. 2015. Xinjiang statistical yearbook. Beijing: China Statistics Press: 383 - 384. (in Chinese)
- 新疆维吾尔自治区统计局. 2015. 新疆统计年鉴. 北京: 中国统计出版社: 383-384.
- Xu Chen-shan. 2014. Effects of calcium on biomass and antioxidant systems in seedlings of *Malus xiaojinensis* under salt stress. *J Plant Physiol*, 50: 817 - 822. (in Chinese)
- 徐臣善. 2014. 钙对盐胁迫下小金海棠实生苗生物量及抗氧化系统的影响. *植物生理学报*, 50: 817 - 822.
- Yang Yi-fan, Lv Xin-min, Lu Xiao-yan, Jin Juan, Fan Xin-min. 2016a. Effects of CaCl<sub>2</sub> on physiological indexes of sour jujube seedlings under NaCl stress. *Journal of Shihezi University (Natural Science)* 34 (4): 415 - 423. (in Chinese)
- 杨怡帆, 吕新民, 鲁晓燕, 靳 娟, 樊新民. 2016a. CaCl<sub>2</sub> 对 NaCl 胁迫下酸枣幼苗抗逆生理指标的影响. *石河子大学学报(自然科学版)*, 34 (4): 415 - 423.
- Yang Yi-fan, Lv Xin-min, Lu Xiao-yan, Jin Juan, Fan Xin-min. 2016b. Principal component analysis of the effects of CaCl<sub>2</sub> on NaCl stress in sour jujube seedlings. *Journal of Fruit Science*, 33 (8): 959 - 968. (in Chinese)
- 杨怡帆, 吕新民, 鲁晓燕, 靳 娟, 樊新民. 2016b. CaCl<sub>2</sub> 缓解酸枣幼苗 NaCl 胁迫的主成分分析. *果树学报*, 33 (8): 959 - 968.
- Yin L, Wang S, Eltayeb A E, Uddin M I, Yamamoto Y, Tsuji W, Takeuchi Y, Tanaka K. 2010. Overexpression of dehydroascorbate reductase, but not monodehydroascorbate reductase, confers tolerance to aluminum stress in transgenic tobacco. *Planta*, 231: 609 - 621.
- Yokoi S, Brcssan R A, Hasegawa P M. 2002. Salt stress tolerance of plant. *JIRCAS Rep*, 23: 25 - 33.
- Yuan Xiao-ting, Liu Wei, Xuan Ya-nan, Zhang Yan-yan, Yan Yong-qing. 2014. Physiological effects of exogenous Ca<sup>2+</sup> on *Nitraria tangutorum* under salt stress. *J Plant Physiol*, 50: 88 - 94. (in Chinese)
- 袁晓婷, 刘 威, 宣亚楠, 张艳艳, 闫永庆. 2014. 盐胁迫下唐古特白刺对外源 Ca<sup>2+</sup> 的生理响应. *植物生理学报*, 50: 88 - 94.
- Zhou Li, Wang Chang-zhu, Li Xin-gang. 2015. Modern cultivated mode of Chinese jujube in Xinjiang. *Journal of Northwest Forestry University*, 30: 139 - 143. (in Chinese)
- 周 丽, 王长柱, 李新岗. 2015. 新疆现代红枣栽培模式研究. *西北林学院学报*, 30: 139 - 143.
- Zhu J K. 2001. Plant salt tolerance. *Plant Science*, 6: 66 - 71.
- Zhu J K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rec Plant Biol*, 53: 247 - 273.
- Zhu Xiao-jun. 2004. Mitigative effects and mechanism of exogenous calcium on rice seedlings under salt stress [M. D. Dissertation]. Nanjing: Nanjing Agricultural University. (in Chinese)
- 朱晓军. 2004. 钙对盐胁迫下水稻实生苗盐害缓解的效应及机理研究[硕士论文]. 南京: 南京农业大学.