

Ca²⁺ 和 TFP 对 NaCl 胁迫下黄瓜幼苗多胺含量和抗氧化酶活性的影响

胡晓辉¹, 王素平²

(1. 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 商丘师范学院 生命科学系 河南 商丘 476000)

摘 要:采用营养液栽培方法,研究 NaCl 胁迫下 Ca²⁺ 和 TFP 对“津春 2 号”黄瓜幼苗叶片中多胺含量和抗氧化酶活性的影响。结果表明:Ca²⁺ 预处理能显著提高 NaCl 胁迫下黄瓜幼苗叶片中亚精胺(Spd)和精胺(Spm)含量,降低腐胺(Put)含量,同时叶片中 SOD、POD 和 CAT 活性也相应提高,使得株高相对生长率和干重明显增加;TFP 预处理能显著增加 Put 含量,降低黄瓜幼苗叶片中 Spd、Spm 含量和(Spd+Spm)/Put 比值,加重了 NaCl 胁迫对黄瓜幼苗生长的抑制。表明 TFP 阻碍 Ca²⁺·CaM 信使功能,从而降低盐胁迫下黄瓜幼苗的抗逆性。

关键词:Ca²⁺; TFP; 多胺; 抗氧化酶; NaCl 胁迫; 黄瓜

中图分类号:S 642.204⁺.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)11-0001-04

多胺是生物体氮代谢过程中产生的一类具有生物活性的低分子量的脂肪族含氮碱,主要包括腐胺(Put)、亚精胺(Spd)和精胺(Spm)。多胺与植物对外界环境胁迫的反应关系密切,当植物遇到环境胁迫如水分胁迫、盐胁迫、低氧胁迫时,可诱导植物体内积累大量的多胺^[1-4]。Ca²⁺ 是植物生育所必需的大量营养元素,也是植物细胞偶联细胞外信息和细胞内生理生化反应的第二信使,是植物生长发育的主要调控者之一。Ca²⁺ 的受体蛋白钙调素(Calmodulin, CaM)参与许多 Ca²⁺ 调节的生理生化反应^[5]。TFP(三氟拉嗪)作为 CaM 拮抗剂,可导致 Ca²⁺·CaM 信号功能发生障碍,利用 TFP 处理阻碍或增强 Ca²⁺·CaM 信号传导是目前研究植物 Ca²⁺·CaM 信号功能的重要手段。

土壤盐渍化对农业生产的威胁是一个全球性的热点问题,也是当前我国农业经济发展所面临的生态危机之一。在我国现有的 1.5×10⁹ hm² 的耕地中,约有 5% 受盐害的影响^[6]。目前,关于 Ca²⁺ 处理能够提高植株耐盐性的报道较多^[7-10]。该试验拟在此基础上,采用 CaCl₂ 和 CaM 拮抗剂 TFP 预处理,深入研究黄瓜植株在盐胁迫下

CaM 和保护酶、多胺含量间的关系,从阻碍或增强 Ca²⁺·CaM 信号转导角度揭示 Ca²⁺·CaM 信号在耐盐生理中的作用机理,为黄瓜耐盐栽培措施提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以“津春 2 号”黄瓜(*Cucumis sativus* L.)品种为试材。2007 年 5~10 月在西北农林科技大学园艺场玻璃温室内培养幼苗。

1.2 试验方法

种子在 27℃ 下催芽 24 h,播于装有石英砂的塑料盘中育苗,昼温 22~28℃,夜温 16~18℃,自然光照。子叶展开后浇 1/2 剂量的山崎黄瓜配方营养液。当幼苗第 2 片真叶展开后,选生长整齐一致的幼苗定植于装有 1 个剂量山崎黄瓜配方营养液的水培槽中,营养液 pH 值调至 6.3±0.1。试验期间,每 2 d 调 1 次 pH 值,3 d 更换 1 次营养液。用气泵给栽培槽营养液间歇通入空气(通气 30 min/h),维持溶氧浓度为 6~8 mg/L。当幼苗 4 片叶片展平时,分别进行 4 个不同处理:对照(CK):正常营养液培养;盐胁迫处理(NaCl):含 50 mmol/L NaCl 营养液培养;盐胁迫处理+CaCl₂ 预处理(NaCl+CaCl₂):在 NaCl 处理前,将幼苗移入含有 10 mmol/L 的 CaCl₂ 营养液中预培养 24 h,预处理结束后移到含 50 mmol/L NaCl 的营养液中;盐胁迫处理+TFP 处理(NaCl+TFP):在 NaCl 处理前,将幼苗移入含有 100 μmol/L 的 TFP 营养液中预培养 24 h,预处理结束后移到含 50 mmol/L NaCl

第一作者简介:胡晓辉(1977-),女,博士,副教授,现主要从事设施园艺与无土栽培方面的研究工作。E-mail: hxx1977@163.com。
通讯作者:王素平(1973-),女,博士,副教授,现主要从事作物逆境栽培生理方面的研究工作。E-mail: spw1973@163.com。
基金项目:国家“十一五”科技支撑计划资助项目(2007BAD79B04-03)。
收稿日期:2010-03-09

的营养液。试验重复 3 次。试验结果采用 SAS 软件Duncan 多重比较法进行统计分析($P<0.05$)。

1.3 测定项目与测定方法

盐胁迫处理 0 和 3 d 时用直尺测定植株株高, 计算相对生长率(RGR)。RGR=(Ln(3 d 的株高)-Ln(0 d 的株高))/3。盐胁迫处理 3 d 时取整株幼苗, 用去离子水冲洗干净, 将地上部和地下部分开, 擦干水分后测定其鲜重, 然后 115℃杀青, 70℃下烘干测定其干重。盐胁迫处理 0 和 3 d, 取幼苗植株顶部向下第 2 片展开叶测定多胺含量和抗氧化酶(SOD、POD、CAT)活性。多胺含量按照李璟等^[3]的方法测定。超氧化物歧化酶(SOD)活性按 Dhindsa 等^[11]方法测定, 以抑制氮蓝四唑(NBT)光化还原 50%为 1 个酶活力单位(U); 过氧化物酶(POD)活性按照曾韶西等^[12]的方法, 以 OD₄₇₀ 增加 0.01/min 为 1 个酶活力单位(U); 过氧化氢酶(CAT)活性按照 Dhindsa 等^[11]的方法测定, 活性以 OD₂₄₀减少 0.1/min 所需的酶量为 1 个活力单位(U)。酶活性以 U/mg 蛋白表示。

2 结果与分析

2.1 Ca²⁺ 和 TFP 对 NaCl 胁迫下幼苗干重和根系生长的影响

由表 1 可知, NaCl 胁迫下, 各处理的幼苗株高相对增长率、地上部和地下部干重均低于对照处理。与单纯 NaCl 胁迫处理相比, CaCl₂ 预处理可以显著提高幼苗株高相对增长率、地上部和地下部干重, 且地下部干重与对照处理无显著差异; 而 TFP 预处理的幼苗株高相对增长率、地上部和地下部干重显著降低。

表 1 Ca²⁺ 和 TFP 处理对 NaCl 胁迫下幼苗干重和根系生长的影响

Table 1 Effects of Ca²⁺ and TFP on seedling biomass and root growth of tomato under NaCl stress

处理 Treatment	株高相对增长率 RGR plant height /cm·d ⁻¹	地上部干重 Shoot fresh weight /g	地下部干重 Root fresh weight/g
CK	0.231±0.009a	2.930±0.060a	0.355±0.065a
NaCl	0.094±0.007c	2.210±0.051b	0.279±0.020bc
NaCl+CaCl ₂	0.129±0.005b	2.570±0.062b	0.300±0.015ab
NaCl+TFP	0.076±0.009c	1.640±0.161c	0.223±0.009c

注: 同列不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$), 下同。

Note: Different letters in the same column meant significant difference at 0.05 level. The same below.

2.2 Ca²⁺ 和 TFP 对 NaCl 胁迫下幼苗多胺含量的影响

由图 1 可知, Put、Spd 和 Spm 含量变化存在差异。NaCl 处理前, CaCl₂ 和 TFP 预处理的幼苗叶片 Put 含量分别比对照处理增加了 8.83%和 20.87%。NaCl 胁迫处理 3 d 时, 单纯 NaCl、CaCl₂ 预处理和 TFP 预处理的幼苗叶片 Put 含量分别比对照处理增加了 139.13%、111.27%和 213.09%; NaCl 处理前, CaCl₂ 和 TFP 预处理的幼苗叶片 Spd 含量分别比对照处理增加了 9.32%和 3.07%。NaCl 胁迫处理 3 d 时, 单纯 NaCl、CaCl₂ 预处理和 TFP 预处理的幼苗叶片 Spd 含量分别比对照处理增加了 28.74%、56.32%和 11.94%; NaCl 处理前, CaCl₂ 和 TFP 预处理的幼苗叶片 Spm 含量分别比对照处理增加了 25.70%和 21.06%。NaCl 胁迫处理 3 d 时, 单纯 NaCl、CaCl₂ 预处理和 TFP 预处理的幼苗叶片 Spm 含量分别比对照处理增加了 44.96%、68.91%和21.38%;

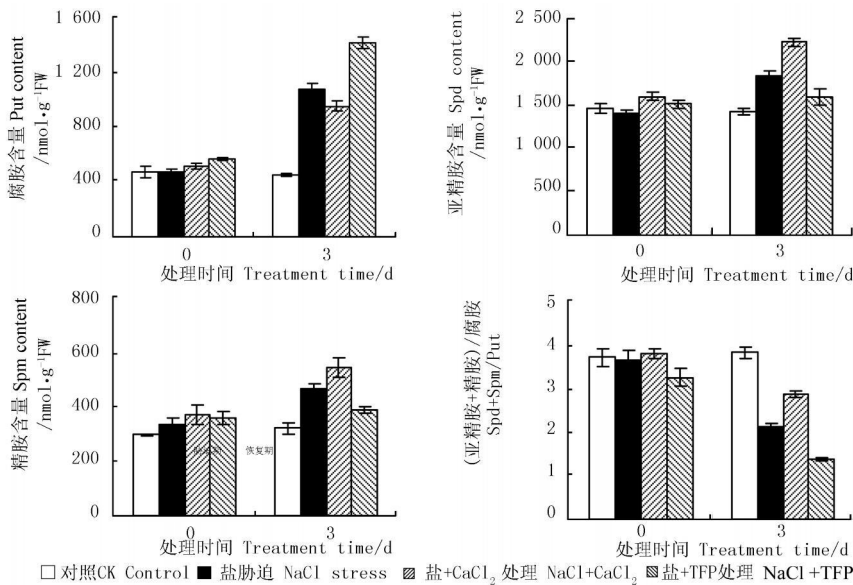


图 1 Ca²⁺ 和 TFP 对 NaCl 胁迫下幼苗多胺含量的影响

Fig. 1 Effect of Ca²⁺ and TFP on PAS content of cucumber seedlings under NaCl stress

NaCl 处理前, CaCl₂ 预处理的幼苗叶片 (Spd+Spm)/Put 稍高于对照处理, 而 TFP 预处理幼苗叶片 (Spd+Spm)/Put 显著高于对照处理。NaCl 胁迫处理 3 d 时, 单纯 NaCl、CaCl₂ 预处理和 TFP 预处理的幼苗叶片 (Spd+Spm)/Put 分别比对照处理降低了 44. 91%、24. 90%和 63. 69%。

2.3 Ca²⁺ 和 TFP 对 NaCl 胁迫下幼苗抗氧化酶活性的影响

由表 2 可知, 各处理的抗氧化酶活性变化相似。NaCl 处理前, CaCl₂ 和 TFP 预处理的幼苗叶片 SOD 活性显著增加, 分别比对照处理增加了 12. 27%和 8. 77%。NaCl 胁迫处理 3 d 时, 单纯 NaCl、CaCl₂ 预处理的幼苗叶片 SOD 活性显著高于对照处理, 分别比对照增加了 31. 81%和 111. 38%; TFP 预处理的幼苗叶片 SOD 活性与对照处理无显著差异; NaCl 处理前, CaCl₂ 和 TFP 预处理的幼苗叶片 POD 活性增加, 分别比对照处理增加了 26. 65%和 83. 97%。NaCl 胁迫处理 3 d 时, 单纯 NaCl、CaCl₂ 预处理的幼苗叶片 POD 活性显著高于对照处理, 分别比对照处理增加了 444. 67%、602. 94%和 328. 11%; NaCl 处理前, CaCl₂ 和 TFP 预处理的幼苗叶片 CAT 活性增加, 且后者显著高于对照处理。NaCl 胁迫处理 3 d 时, 单纯 NaCl、CaCl₂ 预处理和 TFP 预处理的幼苗叶片 CAT 活性分别比对照处理增加了 37. 58%、23. 86%和 77. 78%。

表 2 Ca²⁺ 和 TFP 处理对 NaCl 胁迫下幼苗抗氧化酶活性的影响

Table 2 Effect of Ca²⁺ and TFP on antioxidant enzyme activity of cucumber seedlings under NaCl stress

处理 Treatment		NaCl 处理前 Before NaCl treatment	NaCl 处理 3 d NaCl treated for 3 days
SOD 活性 SOD activity / U · mg ⁻¹ Pr	CK	810. 80 ± 40. 33b	827. 67 ± 16. 45c
	NaCl	810. 80 ± 40. 33b	1090. 96 ± 44. 79b
	NaCl+CaCl ₂	910. 28 ± 25. 43ab	1749. 53 ± 96. 11a
POD 活性 POD activity / U · mg ⁻¹ Pr	NaCl+TFP	1008. 12 ± 50. 09a	833. 88 ± 33. 68c
	CK	39. 73 ± 4. 74b	38. 06 ± 3. 31d
	NaCl	39. 73 ± 4. 74b	207. 3 ± 14. 06b
CAT 活性 CAT activity / U · mg ⁻¹ Pr	NaCl+CaCl ₂	50. 32 ± 4. 62b	267. 54 ± 18. 45a
	NaCl+TFP	73. 09 ± 5. 90a	162. 94 ± 13. 14c
	CK	3. 25 ± 0. 03b	3. 06 ± 0. 04d
	NaCl	3. 25 ± 0. 03b	4. 21 ± 0. 17b
	NaCl+CaCl ₂	3. 37 ± 0. 04b	3. 79 ± 0. 13c
	NaCl+TFP	4. 31 ± 0. 12a	5. 44 ± 0. 17a

3 讨论

植物的耐盐性是受多基因控制的数量性状, 生物量是植物对盐胁迫响应的综合体现及对盐胁迫的综合反应, 也是衡量胁迫耐性时的常用指标。

介质盐分含量过高会降低根际环境的水势, 导致植

株吸水困难, 影响生长^[3]。该试验结果表明, NaCl 胁迫显著抑制了黄瓜植株的生长, 而 CaCl₂ 预处理能够增加植株株高的相对生长率和干重; TFP 预处理加重了 NaCl 胁迫对黄瓜幼苗生长的抑制作用。

多胺是一类具有强烈生理活性的低分子量脂肪族含氮碱, 植物受到非生物逆境胁迫时, 体内多胺浓度迅速变化, 并且不同种类、不同状态的多胺可以向结合态和束缚态多胺转变, 从而增强胁迫条件下膜的稳定性^[14]。外源 Ca²⁺ 处理提高了逆境胁迫下网纹甜瓜和黄瓜等植物体内游离态腐胺、亚精胺和精胺含量, 进而增强植株的耐逆能力。研究表明 (Spd+Spm)/Put 值的变化可以作为黄瓜幼苗抗盐胁迫能力的指标^[4]。该试验中 NaCl 胁迫下, 黄瓜幼苗叶片中自由态多胺含量显著增加。NaCl 胁迫处理前, CaCl₂ 和 TFP 预处理的幼苗叶片多胺含量增加, 但 CaCl₂ 预处理与对照处理差异不显著; NaCl 胁迫处理后, CaCl₂ 预处理的幼苗叶片 Put 含量低于纯 NaCl 处理, 而 Spd 和 Spm 含量增加 (Spd+Spm)/Put 值较高, 缓解了 NaCl 胁迫对幼苗生长的抑制作用。TFP 处理促进了 Put 含量的增加, 抑制了 Put 向下游的转化, 使幼苗 Spd 和 Spm 含量增加受到抑制。由此说明, Ca²⁺ · CaM 信使系统与幼苗多胺含量及其抗 NaCl 胁迫能力存在相关性。

膜系统是植物盐害的主要反应部位, 膜结构和功能完整性及植物内源保护系统的抗胁迫能力主导离子的运输和分配, 是决定植物耐盐性的关键因素^[5]。正常条件下, 植物体内活性氧的产生和消除处于动态平衡状态, 当植物遭受逆境胁迫时, 代谢的平衡被打破, 产生大量的 O₂⁻、H₂O₂ 和 ·OH, 这些活性氧自由基直接或间接地启动膜脂过氧化过程, 使得膜系统的完整性降低, 电解质及有机小分子物质外渗, 从而导致一系列生理生化代谢紊乱。植物细胞为避免自由基对细胞膜的破坏, 在细胞内形成了二类自由基清除系统, 一类是保护酶系统, 另一类是一些小分子内原抗氧化剂。二类自由基清除系统中, 抗氧化酶系统中的第一道防线, 也是最重要的酶, 它歧化 O₂⁻ 为 H₂O₂ 和 O₂, POD 和 CAT 负责清除 H₂O₂, 3 种酶共同作用, 减少植物细胞内自由基的含量, 保护细胞不受伤害, 因此抗氧化酶活性的高低从一定程度上反应了抗逆性的强弱。该试验结果表明, CaCl₂ 预处理能显著提高 NaCl 胁迫下幼苗叶片的抗氧化酶活性, 因此提高植株株高的相对生长率、干重, 进而提高植物耐盐胁迫的能力。与单纯 NaCl 胁迫处理相比, TFP 预处理仅显著提高幼苗叶片的 CAT 活性, SOD 和 POD 活性无明显增加, 幼苗植株株高的相对生长率、干重降低, 根冠比增加, 加重了 NaCl 胁迫对幼苗的伤害。

在 NaCl 胁迫下, TFP 可以显著提高植株体内 Put 含量和 CAT 活性, 降低 Spd 和 Spm 含量, 同时降低 NaCl 胁迫下植株体内 SOD、POD 活性; 而 CaCl₂ 预处理可以提高植株体内抗氧化酶活性, 减少 NaCl 胁迫下体内 Put 的积累, 进而提高植株耐盐性。Ca²⁺ · CaM 信使系统与多胺含量、抗氧化酶活性及其与抗盐能力存在相关性, 阻碍 Ca²⁺ · CaM 信使功能后, 降低盐胁迫下黄瓜幼苗的抗逆性。

参考文献

- [1] 於丙军, 吉晓佳, 刘俊, 等. 氯化钠胁迫下野生和栽培大豆幼苗体内的多胺水平变化[J]. 应用生态学报, 2004, 15(7): 1223-1226.
- [2] Mejia E, Martinez R, Castano T. Effect of drought on polyamine metabolism, yield protein and in vitro protein digestibility in teary (*Phaseolus acutifolius* L.) and common (*Phaseolus vulgaris* L.) bean seeds[J]. Soil Food Agric 2003, 83: 1022-1030.
- [3] 李璟, 胡晓辉, 郭世荣, 等. 外源亚精胺对根际低氧胁迫下黄瓜幼苗根系多胺含量和抗氧化酶活性的影响[J]. 植物生态学报, 2006, 30(1): 118-123.
- [4] 段九菊, 郭世荣, 康云艳, 等. 盐胁迫对黄瓜幼苗根系生长和多胺代谢的影响[J]. 应用生态学报, 2008, 19(1): 57-64.
- [5] 孙大业, 郭艳林. 细胞信号系统[M]. 北京: 科学出版社, 1993: 140-198.

- [6] Mark T, Romola D. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants[J]. Annals of Botany, 2003, 91(5): 503-527.
- [7] 陈华新, 李卫军, 安沙舟, 等. 钙对 NaCl 胁迫下杂交酸模 (*Rumex K-1*) 幼苗叶片光抑制的减轻作用[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2003, 29(5): 449-454.
- [8] 赵翔, 汪延良, 王亚静, 等. 盐胁迫条件下外源 Ca²⁺ 对蚕豆气孔运动及质膜 K⁺ 通道的调控[J]. 作物学报, 2008, 34(11): 1970-1976.
- [9] 朱晓军, 杨劲松, 梁永超, 等. 盐胁迫下钙对水稻幼苗光合作用及相关生理特性的影响[J]. 中国农业科学, 2004, 37(10): 1497-1503.
- [10] 胡晓辉, 李娟, 郭世荣, 等. 钙对根际低氧胁迫下黄瓜幼苗根系呼吸代谢的影响[J]. 园艺学报, 2006, 33(5): 1113-1116.
- [11] Dhindsa R, Plumb-Dhindsa P, Thorpe T. Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase[J]. J Exp Bot, 1981, 32: 91-101.
- [12] 曾韶西, 王以柔, 李美如. 不同胁迫预处理提高水稻幼苗抗寒期间膜保护系统变化比较[J]. 植物学报, 1997, 39(4): 308-314.
- [13] 刘志媛, 朱祝军, 钱亚榕, 等. 等渗 Ca(NO₃)₂ 和 NaCl 对番茄幼苗生长的影响[J]. 园艺学报, 2001, 28(1): 31-35.
- [14] Borrell A, Carbonell K, Farnas R, et al. Polyamines inhibit lipid peroxidation in senescing oat leaves[J]. Physio Plant, 1997, 99: 385-390.
- [15] Asao T, Shimizu N, Ohta K, et al. Effect of rootstocks on the extension of harvest period of cucumber (*Cucumis sativus* L.) growth in non-renewal hydroponics[J]. J Jap Soc Hort Sci 1999, 68: 598-602.

Ca²⁺ and TFP on Polyamine Content and Antioxidant Enzyme Activities of Cucumber Seedlings under NaCl Stress

HU Xiao-hui¹, WANG Su-ping²

(1. College of Horticulture, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100; 2. Department of Life Science, Shangqiu Normal University, Shangqiu, Henan 476000)

Abstract: In the present experiment, effects of calcium (Ca²⁺) and calmodulin antagonist (trifluoperazine TFP) pretreatment on polyamine content and antioxidant enzyme activities in cucumber seedlings (Jinchun NO. 2) to NaCl stress were investigated. The results showed that under NaCl stress, Ca²⁺ pretreatment increased the contents of Spd and Spm in leaves while decreased Put content, enhanced the activities of the antioxidant enzymes, and increased RGR plant height and dry weight of seedlings. While TFP pretreatment increased Put content, decreased the contents of Spd, Spm and (Spd+Spm)/Put, aggravated the inhibition of growth under NaCl stress. It indicated that TFP could restrict the function of Ca²⁺ · CaM which reduced the salt stress tolerance of cucumber seedlings.

Key words: Ca²⁺; TFP; polyamine; antioxidant enzyme; NaCl stress; cucumber