

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201611016

引文格式: 张芳, 宋敏, 彭晚霞, 等. 不同钙浓度对两种岩溶植物幼苗生长及其酶活性的影响 [J]. 广西植物, 2017, 37(6):707-715
ZHANG F, SONG M, PENG WX, et al. Effects of different calcium concentrations on seedling growth and enzyme activities of two karst plant species [J].
Guihaia, 2017, 37(6):707-715

不同钙浓度对两种岩溶植物幼苗生长及其酶活性的影响

张芳^{1,2,5}, 宋敏^{1,2,3}, 彭晚霞^{1,2*}, 曾馥平^{1,2}, 杜虎^{1,2},
胡芳^{1,2,5}, 陈莉^{1,2,4}, 苏樑^{1,2,4}

(1. 中国科学院亚热带农业生态研究所 亚热带农业生态过程重点实验室, 长沙 410125; 2. 中国科学院环江喀斯特生态系统观测研究站, 广西 环江 547100; 3. 湖南农业大学 农学院, 长沙 410128; 4. 湖南农业大学 生物科学技术学院, 长沙 410128; 5. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 该研究采用砂培法, 以狗骨木 (*Swida wilsoniana*) 和南酸枣 (*Choerospondias axillaris*) 两种岩溶植物为研究对象, 用不同钙离子 (Ca^{2+}) 浓度 (设为 5、35、70、150、300 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 5 个水平) 的营养液进行培养, 研究其对两种植物的生长及酶活性的影响。结果表明, 狗骨木和南酸枣的株高在 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时最大, 之后随 Ca^{2+} 浓度上升呈下降趋势, 南酸枣在 300 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时有所回升。两种植物的根、枝、叶生物量和总生物量随着 Ca^{2+} 浓度增加而减少。狗骨木叶、枝、根的生物量分配比率为根 > 枝 > 叶, 南酸枣在 35 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时表现为根 > 枝 > 叶, 其他在 Ca^{2+} 浓度下均为枝 > 根 > 叶, 叶生物量分配少。狗骨木和南酸枣的丙二醛 (MDA) 含量在 150 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时最低, 且狗骨木的低于南酸枣。钙胁迫下, 与南酸枣相比, 狗骨木维持较高的过氧化氢酶 (CAT) 活性和可溶性糖含量。两种植物在 5 和 150 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Ca^{2+} 浓度下各项指标处于较适水平, 而在 300 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的高钙离子浓度下受到明显的胁迫, 对比两种植物, 狗骨木较南酸枣在高钙浓度下有更好的适应性。

关键词: 幼苗, 生物量, 还原糖, 岩溶植物, 抗氧化酶

中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2017)06-0707-09

Effects of different calcium concentrations on seedling growth and enzyme activities of two karst plant species

ZHANG Fang^{1,2,5}, SONG Min^{1,2,3}, PENG Wan-Xia^{1,2*}, ZENG Fu-Ping^{1,2},
DU Hu^{1,2}, HU Fang^{1,2,5}, CHEN Li^{1,2,4}, SU Liang^{1,2,4}

(1. Key Laboratory of Agro-ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China; 2. Huangjiang Observation and Research Station of Karst Ecosystem, Chinese Academy of Sciences, Huangjiang 547100, Guangxi, China; 3. Agricultural College, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 4. College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 5. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049)

Abstract: Calcium (Ca) is an essential nutrient for plant growth; however, high Ca concentrations have detrimental effects on several plant species, while a few plant species have adapted to high levels of Ca via multiple mechanisms. The

收稿日期: 2016-11-10 修回日期: 2017-06-08

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2016YFC0502405); 国家自然科学基金 (31370485, 31370623, 31400412, 31460135); 广西科技惠民计划项目 (桂科转 1599001-6); 广西重点研发计划项目 (桂科 AB16380255); 广西特聘专家项目 [Supported by the National Key Research and Development (2016YFC0502405); National Natural Science Foundation of China (31370485, 31370623, 31400412, 31460135); Guangxi Provincial Benefiting Program of Science and Technology (1599001-6); Guangxi Key Research and Development Program (AB16380255); Guangxi Program of Distinguished Experts]。

作者简介: 张芳 (1994-), 女 (土家族), 湖南凤凰人, 硕士, 主要从事森林生态学研究, (E-mail) 15574954406@163.com。

*通信作者: 彭晚霞, 副研究员, 主要从事生态学研究, (E-mail) wxpeng@isa.ac.cn。

limestone soils of karst regions in southwest China are characterized by high levels of Ca, which have substantial influences on plant physiological characteristics and distribution. High Ca concentrations influence photosynthesis and might even destroy organelles resulting in death of the plant. Adaptation mechanisms of plants to high concentrations of Ca are very complex processes and are relative to all aspects of plant growth. Selection of suitable tree species plays a key role in ecological restoration. In order to investigate the physiological adaptation mechanisms of plants to high calcium conditions in the karst region of Southwest China, a pot experiment was conducted with seedlings of two species, i.e., *Swida wilsoniana* and *Choerospondias axillaris*. To exclude the influences from other confounding factors, each pot was filled with sand instead of soil. The seedlings were treated with five Ca levels, i.e., 5, 35, 70, 150, 300 mmol · L⁻¹. The growth and enzyme activities of the two plant species were measured. The results showed that the both species were the highest at 5 mmol · L⁻¹, and tended to decrease with the increase in Ca concentration. The biomass of roots, branches, leaf and total biomass of both species demonstrated a downward trend as Ca concentration increase, but those of *C. axillaris* showed a tendency to increase for the 300 mmol · L⁻¹ treatment. The biomass allocation ratio was in the order of root > branch > leaf for *Swida wilsoniana*, and root > branch > leaf for *S. wilsoniana* at 35 mmol · L⁻¹. The biomass allocation at other Ca levels showed a variation pattern of branch > root > leaf for both species. MDA content was the greatest at 150 mmol · L⁻¹ for both species. MDA content of *Choerospondias axillaris* was lower than that of *Swida wilsoniana*. The soluble sugar content and CAT activity of *S. wilsoniana* under calcium stress were higher than those of *Choerospondias axillaris*. The physiological indices reached optimum levels at the Ca concentrations of 5 and 150 mmol · L⁻¹ for both species, while were inhibited at the concentration 300 mmol · L⁻¹, which led to a decline of photosynthetic capacity. Our results also revealed that *S. wilsoniana* had better adaptability to high Ca concentrations relative to *C. axillaris*.

Key words: seedling, biomass, soluble sugar, karst plant, antioxidative enzyme

钙作为生物膜的稳定剂及偶联胞外信号与胞内生理生化反应的第二信使,具有维护植物细胞壁和细胞膜结构与功能的作用(Bush, 2003),与CaM结合调节细胞内多种重要酶的活性和生理过程。钙是植物生长中必需的元素之一,植物体内钙的含量为0.1%~0.5%,植物体在适合的钙浓度下才能保持正常发育(White et al, 2003)。细胞中过高的游离钙会对植物的生长产生不利的影响,与PO₄³⁻产生沉淀,从而使磷代谢的相关过程受到干扰,使钙信号传递受阻,导致植物的生长受到影响(Hirschi 2004)。喀斯特独特的地质积累和气候条件决定了其适生植物具有嗜钙性、耐旱性和石生性特点(彭晚霞等, 2008; 宋同清等, 2014),喀斯特钙含量约为1.8%,非喀斯特地区如南方红壤钙含量为0.5%,钙含量为非喀斯特的三倍,高钙胁迫会损害植物细胞,导致植物死亡,这也是喀斯特地区许多植物无法正常生长的原因。

南酸枣(*Choerospondias axillaris*)为落叶乔木,性喜阳光,喜温暖湿润气候,适生于深厚肥沃而排水良好的酸性或中性土壤,为造林绿化先锋树种。狗骨木(*Swida wilsoniana*)为常绿乔木,喜光、喜钙、耐旱、根系扩展,萌芽力强,石灰岩山地的优良速生树种,两者均为喀斯特高钙环境的适生植物。在正常条件下,生物体内自由基的产生和消除之间处于平

衡状态,当处于逆境条件时,细胞内自由基产生和消除的平衡遭到破坏,而出现活性氧的积累(杨春祥等, 2005)。过多的活性氧会损害破坏膜、蛋白质和核酸(Ma et al, 2013)。但是,植物体内也存在活性氧消除系统,这些酶的相互协调作用,维持活性氧和自由基产生和清除平衡,使植物进行正常的生长和代谢。研究表明镉(韩航等, 2016)、低氧(刘义玲等, 2010)、低温胁迫(吕星光等, 2016)使细胞质膜氧化加剧,根系受到伤害,植物生长受到抑制。干旱胁迫(井大炜等, 2013)和盐胁迫(张栎等, 2014)导致活性氧大量增加,超出抗氧化酶的清除能力,植物生长受到抑制。目前高钙胁迫对植物生长及酶活性的影响研究较少且不全面。

本研究针对西南喀斯特地区土壤高钙环境,选择狗骨木和南酸枣两种岩溶适生植物幼苗为研究对象,采用砂培培养并人为控制钙供应,经过长期培养后,测定两种植物株高和生物量、丙二醛、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶和可溶性糖的含量,分析不同钙离子浓度下两种植物各指标变化特征,探讨植物对喀斯特地区高钙环境的适应方式,揭示西南喀斯特地区植物对高钙环境的生理生态适应机制,为群落生态学发展、喀斯特地区植被迅速恢复和生态重建提供理论支持。

1 材料与方 法

1.1 研究区概况

试验地设在中国科学院环江喀斯特生态系统观测研究站内,属亚热带性季风气候。年均气温 16~20 ℃,最冷月份为 1 月,平均温度 10.1 ℃,极端最低温度 -5.2 ℃,最热月份为 7 月,平均温度 28 ℃,极端最高温度 38 ℃。平均降水量 1 389 mm,降雨集中在 4-9 月份,约占全年降水量 70%。年均蒸发量为 1 571 mm,空气年均相对湿度为 70%,年均日照为 1 451 h,年均太阳总辐射为 334~413 KJ·cm⁻²。该区域为典型岩溶峰丛洼地景观,地势四周高、中间低,最高海拔 647 m,最低海拔 272 m,≥25°的坡面占 62%。研究区中以藤本、草本、灌木和蕨类植物居多,小乔木一般为喜钙和耐旱树种。

1.2 试验培养及处理

采用砂培法来排除各因素对实验结果的影响,通过配得不同 Ca²⁺ 浓度营养液对植物进行培养。实验为单因素 5 水平 3 重复完全随机设计。选取狗骨木和南酸枣两个喜钙树种,均为一年生植物、长势基本一致。营养液的 Ca²⁺ 浓度分别设为 5、35、70、150、300 mmol·L⁻¹ 的 5 个水平,其中用 5 mmol·L⁻¹ 的 Ca²⁺ 浓度模拟酸性土中交换态钙含量,150 mmol·L⁻¹ 模拟石灰土中交换态钙平均含量,每个水平设 3 个桶,每桶栽植 4 株树苗(罗绪强等,2013)。共 60 个桶。

石英砂处理:先将石英砂用水浸泡,再经 0.5% 盐酸浸泡 24 h,之后用自来水洗至中性。再将石英砂装入各个塑料桶(直径 60 cm,高 50 cm)中,上沿空出 3~5 cm,以便水和营养液的浇灌。

营养液的配制:采用霍格兰氏(Hoagland's)、阿农(Arnon)营养液为基础营养液。用乙酸钙 Ca(CH₃COO)₂ 配出不同 Ca²⁺ 浓度梯度的各级营养液。

植物的移栽:选择阴天进行植物的移栽,移栽前将植物根系洗净,尽量减少对植物根系的损害。

4 月开始培养,培养时间为 2 个月。每隔 2 d 浇 1 次营养液,每次每桶浇 400 mL,各处理营养液施入量、施入时间均一致。每 2 d 每桶浇去离子水约 400 mL。在桶底侧开一个小口接上塑料软管,下设接漏桶,多余营养液从盆底的水龙头流出、收集并在浇完营养液第二天返桶。根据水分及植物生长状况适当

调整。培养期间每 7 d 测定 1 次树高。至 6 月初开始取样测定,并在测定过程中继续培养。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 株高和生物量测定 11 月份进行取样,每个处理选取 3 株长势均一的植株整体采样。测定其株高。之后分离其根、茎、叶,分别取样称得鲜重,然后在 75 ℃ 下烘干至恒重称重,计算生物量。

1.3.2 过氧化氢酶(CAT)的测定 取待测叶片 0.25 g 放入预先冷却的研钵中,加 2 mL 预先冷却的磷酸缓冲液,在冷浴下研磨成匀浆,之后加磷酸缓冲液来冲洗研钵,定容 25 mL,并在 4 ℃、10 000 r·min⁻¹ 下离心 20 min,取上清液即为 CAT 粗酶液。以煮死酶液为空白,25 ℃ 预热后加入 0.3 mL 0.1 mol·L⁻¹ 的 H₂O₂, 240 nm 下计时比色,以 1 min 内 A₂₄₀ 减少 0.1 的酶量为 1 个酶活单位(u)(王韶唐,1986)。

$$\text{过氧化氢酶活性}(u \cdot g^{-1} \cdot \text{min}^{-1}) = \frac{\Delta A_{240} \times V_T}{0.1 \times V_1 \times t \times FW}$$

式中,ΔA₂₄₀ 为 AS₀-(AS₁+AS₂)/2, AS₀ 为加入煮死酶液的对照管的吸光度,AS₁、AS₂ 为样品管吸光度,V_T 为粗酶提取液总体积(mL),V₁ 为测定用粗酶液体积(mL),FW 为样品鲜重(g),0.1 为 A₂₄₀ 每下降 0.1 为 1 个酶活单位(u),t 为加过氧化氢到最后一次读数时间(min)。

1.3.3 超氧化物歧化酶(SOD)的测定 取待测叶片 0.25 g 放入预冷后的研钵中,加入 2 mL 预冷后的磷酸缓冲液,在冷浴下研磨成匀浆,之后加磷酸缓冲液冲洗研钵,定容到 10 mL,并在 4 ℃、10 000 r·min⁻¹ 下离心 20 min,取上清液为 SOD 的粗酶液。

显色反应:选取透明度好、材质相同的试管 4 支,2 支为测定,2 支为对照,3 mL 反应液中含 50 mmol·L⁻¹ 磷酸缓冲液(pH7.0),13 mmol·L⁻¹ 蛋氨酸,75 μmol·L⁻¹ 氮蓝四唑(NBT),0.1 mmol·L⁻¹ 乙二胺四乙酸(EDTA)和 0.1 mL 酶液,最后加 4 μmol·L⁻¹ 核黄素。放置在 4 klx 日光灯之下进行反应,温度为 25 ℃,反应 10 min 放置在黑暗终止其反应,用遮光的对照试管作空白,在 560 nm 波长之下测得各管的吸光度(王韶唐,1986)。

1.3.4 丙二醛(MDA)的测定 称取剪碎的新鲜材料 0.5 g,加入 10%的 TCA 2 mL 和石英砂,之后研磨成匀浆,然后加 TCA 3 mL 继续研磨,匀浆离心,4 000 r·min⁻¹ 30 min,取上清液作为样品提取液。吸取离心之后的上清液 2 mL(而对对照加 2 mL 蒸馏水),加 2 mL 0.6%的 TBA 溶液,混匀物放在沸水浴反应

15 min,之后迅速冷却再离心。取上清液在 532、450 和 600 nm 波长之下的消光度(王韶唐,1986)。

计算公式:

$$\text{MDA}(\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{\text{MDA 浓度} \times \text{提取液体积}}{\text{植物组织鲜重}}$$

1.3.5 可溶性糖测定 叶片中的可溶性糖提取:剪碎

混匀后称取新鲜样品 0.5~1.0 g(或干样粉末 5~100 mg),然后放入试管后,加 15 mL 蒸馏水,沸水浴加热煮沸 20 min 后,取出冷却,然后过滤转入 100 mL 容量瓶,蒸馏水冲洗数次后,定容。标准曲线的制作:先取 6 支试管,按 0~5 编号号,之后按表 1 的要求加入各试剂。

表 1 蒽酮法可溶性糖标准曲线试剂量

Table 1 Reagent volume of soluble sugar standard curve measuring by Anthrone method

试剂 Reagent	试管编号 Tube number					
	0	1	2	3	4	5
葡萄糖溶液 Glucose solution 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (mL)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
蒸馏水 Distilled water (mL)	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0
蒽酮试剂 Anthrone reagent (mL)	5	5	5	5	5	5
葡萄糖量 Amount of glucose (mg)	0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.10

先将各试管混匀后,先在沸水浴中放置 10 min,再取出冷却,然后在 620 nm 的波长之下,使用空白调零后测定光密度,将光密度作为纵坐标,所测得葡萄糖含量(μg)作为横坐标完成标准曲线。

样品测定:吸取已提取样品 1.0 mL 后加 5 mL 蒽酮试剂,然后测定光密度,每个样品 3 次重复。

可溶性糖含量($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$) = 从标准曲线查得糖的量(μg) \times 提取液体积(mL) \times 稀释倍数/[测定用样品液的体积(mL) \times 样品重量(g) $\times 106$] $\times 100$

1.4 数据分析

数据用 Excel 2003 进行数据处理和计算,用 SPSS 19.0 进行多重比较、方差分析和相关分析,用 Origin 9.1 制作图表,用 Pearson 相关系数法计算变量之间的相关性。

2 结果与分析

2.1 不同钙离子浓度对两种植物株高的影响

由图 1 可知,狗骨木和南酸枣的株高均在钙离子浓度为 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时最大,之后随着钙离子浓度增加而减小,南酸枣的株高在 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为 151.6 cm,显著高于其他浓度处理,在 150 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时最低,为 101.1 cm,两者相差 49.95%。狗骨木的株高在 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为 113.2 cm,在 300 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时最低,为 72.7 cm,两者相差 55.71%;前 4 个水平株高差异不显著,但均显著高于 300 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。从表 2

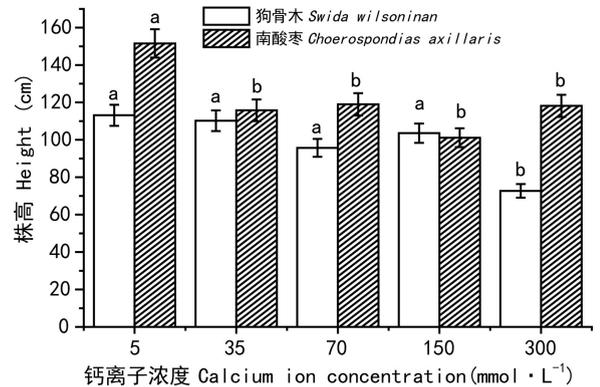


图 1 不同钙离子浓度对两种植物株高的影响
不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。下同。
Fig. 1 Effects of different calcium concentrations on heights of two plants. Different small letters indicate significant differences ($P < 0.05$). The same below.

看出,狗骨木株高与钙离子浓度为显著负相关,南酸枣无显著相关。

2.2 不同钙离子浓度对两种植物生物量的影响

由图 2 可知,狗骨木的叶、枝生物量均随钙离子浓度的上升而下降,根的生物量大小依次为 35>70>5>150>300 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。南酸枣的叶、枝、根的生物量总体上随钙离子浓度的上升呈下降趋势,但是在不同的部位变化不同,叶和枝的生物量除 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时与其他各浓度间的差异显著,其他差异不显著,而根的生物量整体差异不显著。由表 2 可知,狗

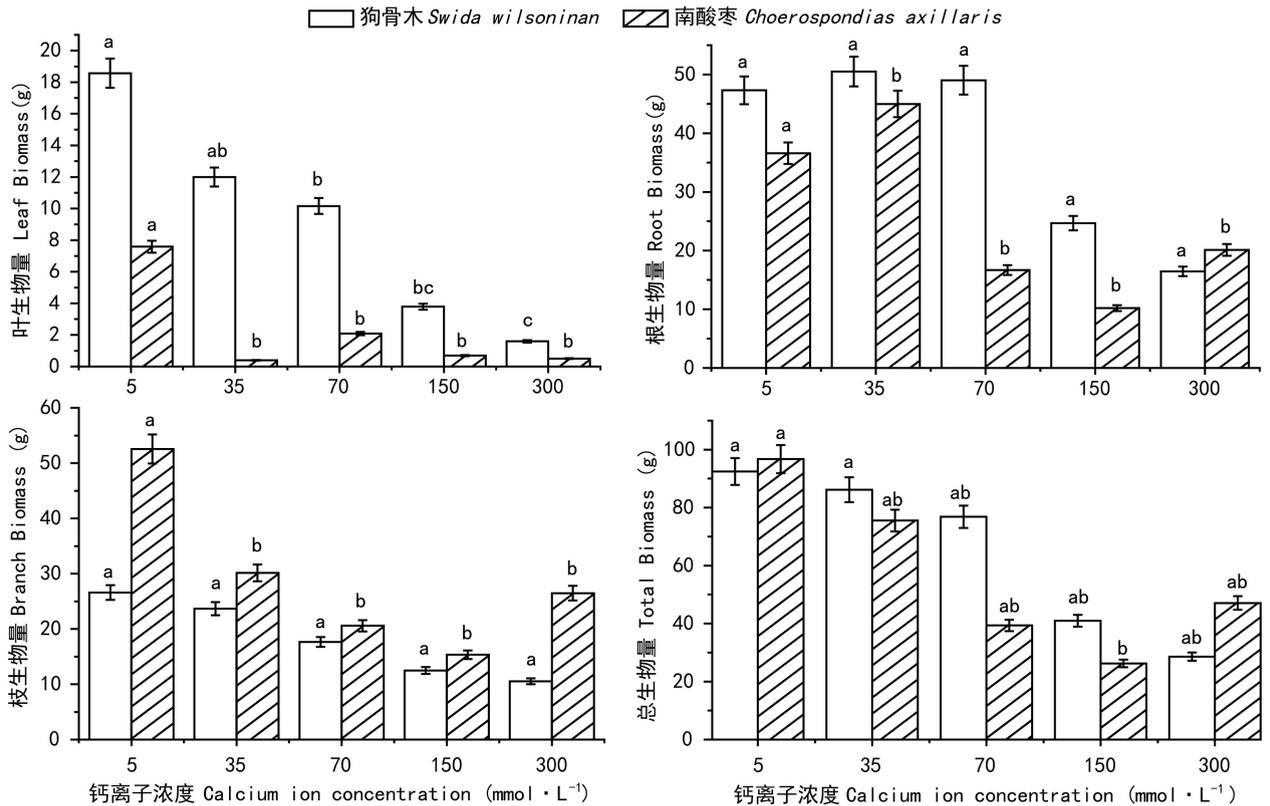


图 2 不同钙离子浓度对两种植物叶、枝、根和总生物量的影响

Fig. 2 Effects of different calcium concentrations on biomass of leaves, branches, roots, and the total biomass of the two plants

骨木的叶、枝、根的生物量与钙离子浓度均为显著负相关,南酸枣无显著相关。

狗骨木的总生物量随钙离子浓度的上升而下降,在 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时是 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的 33.18%。南酸枣的总生物量变化与狗骨木相似,在 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 有所回升,在 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最低值,是 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的 48.69%。对比狗骨木和南酸枣的总生物量可发现,在 5 和 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时南酸枣的总生物量要大于狗骨木,而在 35、70 和 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时狗骨木的总生物量大于南酸枣。狗骨木总生物量与钙离子浓度显著负相关,南酸枣无显著相关(表 2)。

2.3 不同钙离子浓度对两种植物生物量分配比率的影响

由表 3 可知,狗骨木的枝叶比、根叶比随钙离子浓度的升高而升高,与钙离子浓度均为显著正相关。狗骨木的根枝比大小为 $70 > 35 > 150 > 5 > 300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,中间高两头低,与钙离子浓度无显著相关。由比值可知,狗骨木各部位的生物量为根 > 枝 > 叶。而南酸枣的枝叶比、根叶比大小为 $35 > 300 > 150 > 70 > 5$

表 2 不同钙离子浓度对两种植物生物量、株高影响的相关分析

Table 2 Correlation analysis on the relationships between calcium concentrations and biomass, height of the two plants

生物量和株高 Biomass and height	相关系数 Correlation coefficient	
	钙离子浓度 (狗骨木) Calcium ion concentration (<i>Swida wilsoniana</i>)	钙离子浓度 (南酸枣) Calcium ion concentration (<i>Choerospondias axillaris</i>)
叶生物量 Leaf biomass	-0.909 *	-0.572
枝生物量 Branch biomass	-0.906 *	-0.492
根生物量 Root biomass	-0.928 *	-0.572
总生物量 Total biomass	-0.953 *	-0.780
株高 Height	-0.915 *	-0.479

注: * 表示在 0.05 水平(双侧)上显著相关。下同。

Note: * mean significantly correlated at the 0.05 level (bilateral). The same below.

$\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 均与钙离子浓度无显著相关。南酸枣的根枝比大小为 $35 > 70 > 300 > 5 > 150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。由比

表 3 不同钙离子浓度下两种植物生物量分配比率的相关分析

Table 3 Correlation analysis on the relationships between different calcium concentrations and biomass stoichiometry of the two plants

树种 Species	指标 Index	钙离子浓度 Calcium ion concentration ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)					相关系数 Correlation coefficient
		5	35	70	150	300	
狗骨木 <i>Swida wilsoniana</i>	枝/叶 Branch/Leaf	1.43	1.97	1.74	3.30	6.61	0.993 * *
	根/枝 Root/Branch	1.78	2.13	2.78	1.97	1.56	-0.470
	根/叶 Root/Leaf	2.55	4.21	4.82	6.51	10.32	0.980 * *
南酸枣 <i>Choerospondias axillaris</i>	枝/叶 Branch/Leaf	6.92	75.64	9.86	22.16	52.85	0.270
	根/枝 Root/Branch	0.70	1.49	0.81	0.66	0.76	-0.067
	根/叶 Root/Leaf	4.82	112.88	8.00	14.73	40.18	-0.339

注: ** 表示在 0.01 水平(双侧)上极显著相关。

Note: ** mean significantly related at 0.01 level (bilateral).

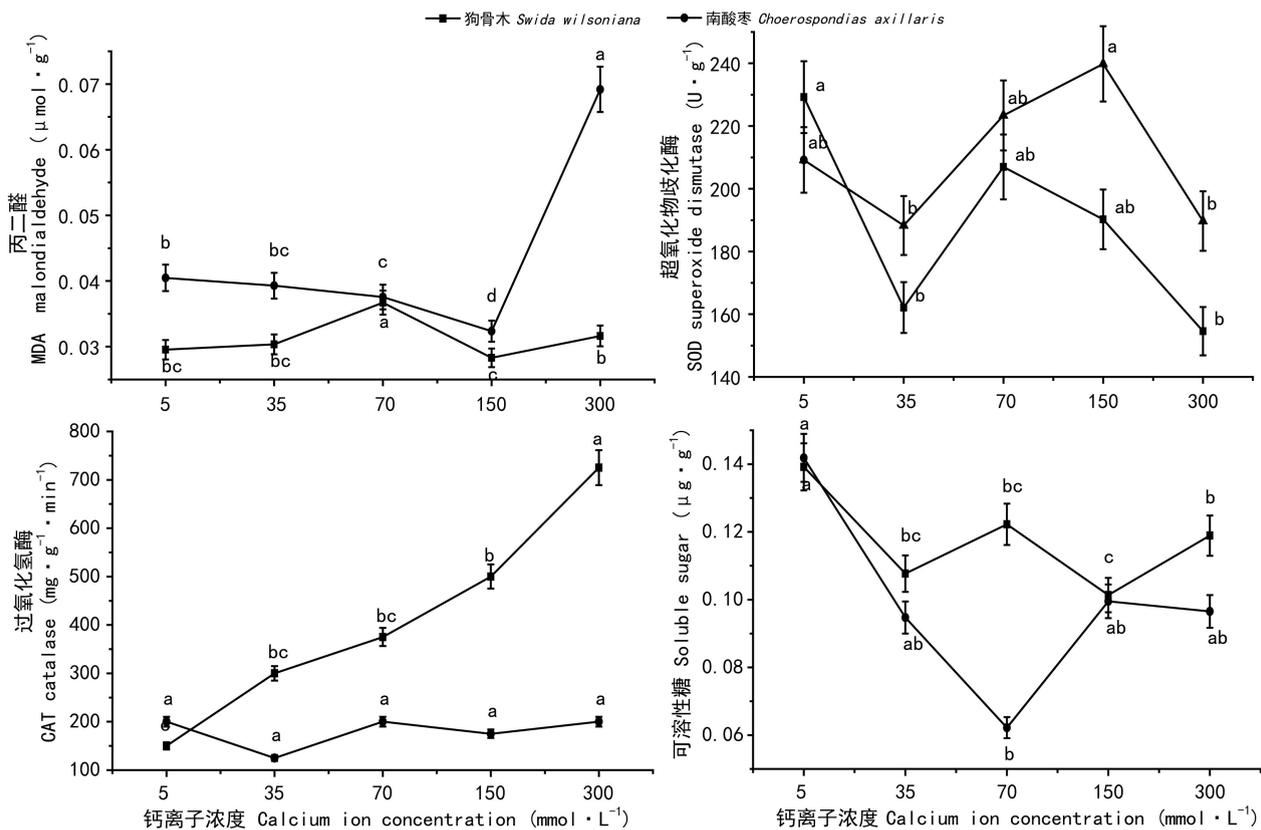


图 3 不同钙离子浓度对两种植物 MDA、CAT、SOD 和可溶性糖的影响

Fig. 3 Effects of different calcium concentrations on MDA, CAT, SOD and soluble sugar of the two plants

值可知,南酸枣根、枝生物量相差不大,但叶生物量积累较少。

2.4 不同钙离子浓度对两种植物丙二醛(MDA)含量的影响

由图 3 可知,南酸枣的 MDA 含量随着钙离子浓

度的增大表现为先减少后再增加,在 5~150 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间 MDA 含量随钙离子浓度升高而下降,在 300 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时出现较大的升高,相比 150 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时升高了 113.82%。狗骨木的丙二醛含量随着钙离子浓度的增大表现为先上升后下降再上升的趋势,在

5~70 mmol · L⁻¹之间 MDA 含量随钙离子浓度升高而上升,在 150 mmol · L⁻¹时出现下降,然后 300 mmol · L⁻¹又有小幅上升。南酸枣的丙二醛含量均大于狗骨木,在 70 mmol · L⁻¹时二者相差最小,为 2.33%,在 300 mmol · L⁻¹时二者相差最大,为 118.72%。由表 4 可知,狗骨木 MDA 与钙离子浓度均无显著相关,而南酸枣为显著相关。

2.5 不同钙离子浓度对两种植物超氧化物歧化酶 (SOD) 含量的影响

由图 3 可知,狗骨木的 SOD 在 5 mmol · L⁻¹时值最高,在 70~300 mmol · L⁻¹时随着钙离子浓度的升高而下降,最低值在 300 mmol · L⁻¹,两者相差 32.56%。南酸枣的 SOD 含量与狗骨木变化趋势相似,在 35 mmol · L⁻¹时降至最低,然后在 35~150 mmol · L⁻¹时随着钙离子浓度的升高而升高,在 150 mmol · L⁻¹时达到最高值,最后在 300 mmol · L⁻¹出现降低,其最高值与最低值之间相差 21.49%。在 5 mmol · L⁻¹时狗骨木的 SOD 含量要高过南酸枣,之后随钙离子浓度增加南酸枣的 SOD 含量要高于狗骨木。由表 4 可知,狗骨木和南酸枣的 SOD 与钙离子浓度均无显著相关。

2.6 不同钙离子浓度对两种植物过氧化氢酶 (CAT) 含量的影响

由图 3 可知,随着钙离子浓度的增大,南酸枣 CAT 含量变化较小,其最大值和最小值分别为 5 和 35 mmol · L⁻¹,两者相差 37.5%。狗骨木的 CAT 含量随着钙离子浓度的增大呈上升趋势,相比 5 mmol · L⁻¹下的 CAT 含量,随钙离子浓度的增加,分别增加了 50%、60%、70%、79.3%。在 5 mmol · L⁻¹时南酸枣的过氧化氢酶含量要高过狗骨木,之后随钙离子浓度增加狗骨木的过氧化氢酶含量要高于南酸枣。由表 4 可知,狗骨木 CAT 与钙离子浓度为显著正相关而南酸枣无显著相关。

2.7 不同钙离子浓度对两种植物可溶性糖含量的影响

由图 3 可知,狗骨木和南酸枣的可溶性糖含量随钙离子浓度的升高均出现波动的变化,狗骨木可溶性糖含量在不同的钙离子处理下表现为 5>70>300>35>150 mmol · L⁻¹,南酸枣的可溶性糖含量在不同的钙离子处理下表现为 5>150>300>35>70 mmol · L⁻¹。对比两种可溶性糖的含量,可以发现在 5 mmol · L⁻¹时南酸枣的可溶性糖含量要高过狗骨木,之后随钙离子浓度增加狗骨木的可溶性糖含量

要高于南酸枣。由表 4 可知,狗骨木和南酸枣的可溶性糖与钙离子浓度无显著相关。

表 4 不同钙离子浓度对两种植物 MDA、CAT、SOD 和可溶性糖影响的相关分析

Table 4 Correlation analysis on the relationships between different calcium concentrations and MDA, CAT, SOD, and soluble sugar of the two plants

项目 Item	相关系数 Correlation coefficient	
	钙离子浓度 (狗骨木) Calcium ion concentration (<i>Swida wilsoniana</i>)	钙离子浓度 (南酸枣) Calcium ion concentration (<i>Choerospondias axillaris</i>)
丙二醛 MDA Malondialdehyde (μmol · g ⁻¹)	-0.044	0.756 *
过氧化氢酶 CAT Catalase (mg · g ⁻¹ · min ⁻¹)	0.822 * *	0.228
超氧化物歧化酶 SOD Superoxide dismutase (U · g ⁻¹)	-0.593	-0.132
可溶性糖 Soluble sugar (μg · g ⁻¹)	-0.234	-0.220

3 讨论与结论

高钙对植物产生的胁迫直观表现为植物株高和生物量的降低。生物量是植物积累能量的主要体现,其在各器官中的分配方式受外界环境的影响 (Karel et al, 2006; Schmid et al, 2002)。本研究中随着钙离子浓度的升高,植物的生长受到了胁迫,株高和生物量出现不同程度的降低,两种植物在高钙环境下减少株高和生物量采取保守策略进行缓慢的资源获取和消耗 (王振兴等, 2012), 这与 Zhu et al (2015) 研究结果一致。狗骨木和南酸枣的适应方式不同,狗骨木通过加强钙的吸收及转运维持植物体较高的钙含量水平 (姬飞腾, 2009), 南酸枣通过减少钙的吸收量维持较低的钙水平及其向地上部分转移 (姬飞腾, 2009)。植物通过调节地下与地上之间的生物量分配,来适应不同环境 (杨昊天, 2013), 从生物量分配比率可知,狗骨木的生物量分配为根>枝>叶,植物将生物量分配到根中,吸收更多的钙来适应高钙环境。南酸枣叶、枝、根的生物量含量大小除 35 mmol · L⁻¹时为根>枝>叶,其他钙离子浓度下均为枝>根>叶,南酸枣根、枝生物量相差不大,叶

生物量分配少,可能是通过叶片凋落将钙离子排除体外以维持体内较低钙浓度(黄雍容,2014)。MDA含量是膜脂过氧化的一个指标,反映了逆境条件下的损伤程度(Weng et al,2015)。它的积累会对生物机体细胞产生毒害作用,使膜结构和功能受到破坏(Javadian et al,2010)。在0~150 mmol·L⁻¹之间,随着钙离子浓度增加,狗骨木出现先升高后较低的趋势,而南酸枣含量逐渐降低,均在150 mmol·L⁻¹时MDA含量最低,过高或过低含量的钙均对MDA含量造成影响。在300 mmol·L⁻¹时MDA迅速增加,这说明植物受到迫害,清除能力降低,其膜系统受到较严重的氧化破坏(龙明华等,2005),这与前人研究MDA变化一致(Benhamdi et al,2014; Zhou et al,2015)。南酸枣的MDA含量大于狗骨木,说明狗骨木所受胁迫小,有较高的耐钙能力,更有利于在高钙环境中生存。

SOD和CAT在植物体内协同作用,在逆境胁迫中清除过量的活性氧,保护膜结构,使植物在一定程度上忍耐、减缓或抵御逆境胁迫伤害(Liang et al,2003)。本研究中狗骨木和南酸枣的SOD变化相似,均为先降低后增加再降低,两种植物分别在5、150 mmol·L⁻¹达最大值。在300 mmol·L⁻¹植物的SOD含量出现下降,可能是钙离子的浓度太高,对狗骨木和南酸枣两种植物体产生了毒害作用,活性氧无法及时清除,这表明过高的钙浓度已超出了狗骨木和南酸枣的耐受范围。这与陈涛等(2011)和易心钰等(2016)的研究结果相似。植物在受到胁迫或病害时,先产生H₂O₂和其它活性氧,CAT能分解H₂O₂,从而清除过氧化体中的H₂O₂。本研究中南酸枣的CAT含量变化平稳,而狗骨木的CAT随着钙离子浓度的增加而增加。CAT在5 mmol·L⁻¹时最低,随着钙离子浓度增加而增加,有利于及时清除植株体内过氧化物的积累,保证正常的生理代谢进行。南酸枣变化幅度较小,清除植株体内过氧化物的能力弱,表明狗骨木对高钙的适应性比南酸枣强。

作为植物体内调节有机渗透物质之一的可溶性糖,在植物受到胁迫时,植物调节可溶性糖等物质的增高来降低细胞渗透势,从而缓解胁迫对植物的损害。通过对植物可溶性糖含量的测定得知植物对胁迫环境的适应能力(吉增宝等,2009)。狗骨木的可溶性糖含量随着钙离子浓度的上升出现上下波动,变幅较小,而南酸枣的可溶性糖含量在70 mmol·

L⁻¹时出现大幅下降。细胞质钙浓度过高会导致植物死亡,狗骨木保持高可溶性糖含量,稳定膜的透性,将高浓度钙阻隔在细胞质外,维持活性。

两种植物在5 mmol·L⁻¹模拟普通的酸性土和150 mmol·L⁻¹模拟石灰土的钙离子浓度下各项指标处于最适水平,反映出狗骨木和南酸枣在普通的酸性土、石灰土环境中表现出较好的适应性,两种典型岩溶植物在300 mmol·L⁻¹的高钙离子浓度下受到了明显的胁迫。胁迫期间,狗骨木和南酸枣株高及生物量减少,以保守的姿态度过胁迫。随着钙离子浓度的升高,狗骨木相对于南酸枣有着较高的CAT、可溶性糖含量,可能是高钙胁迫下通过钙代谢机制,开启Ca²⁺通道,Ca²⁺与CaM结合后作为激素和环境信号传导的第二信使能调节酶的活性,可减少膜脂过氧化,稳定膜的透性,更有利于在高钙环境中生存。本研究选取的两种喀斯特典型岩溶植物,均为喀斯特高钙环境的适生植物,两者在钙胁迫下的变化有一定的相似性,可在以后的研究中加入嫌钙植物作为对比。

参考文献:

- BENHAMDI A, BENTELLIS A, RACJED O, et al, 2014. Effects of antimony and arsenic on antioxidant enzyme activities of two steppic plant species in an old antimony mining area [J]. Biol Trace Elem Res, 158(1): 96-104.
- BUSH DS, 1995. Calcium regulation in plant cells and its role in Signaling [J]. Plant Biol, 46(46): 95-122.
- CHEN T, WANG GM, SHEN WW, et al, 2011. Effect of salt stress on the growth and antioxidant enzyme activity of kenaf seedlings [J]. Plant Sci J, 29(4):493-501. [陈涛,王贵美,沈伟伟,等,2011.盐胁迫对红麻幼苗生长及抗氧化酶活性的影响[J].植物科学学报,29(4):493-501.]
- HAN H, CHEN XJ, HOU XL, et al, 2016. Effects of cadmium stresses on growth and antioxidant activities of *Neyraudia reynaudiana* [J]. J Agro-Environ Sci, 35(4):647-653. [韩航,陈雪娇,侯晓龙,等,2016. Cd胁迫对类芦生长及酶活性的影响[J].农业环境科学学报, 35(4):647-653.]
- HIRSCHI KD, 2004. The calcium conundrum. Both versatile nutrient and specific signal [J]. Plant Physiol, 136(1): 2438-2442.
- HUANG YR, LIN WX, NIE S, et al, 2014. Changes of antioxidant metabolism and organic solute accumulation of *Pittosporum pentandrum* and *Koelreuteria elegans* seedlings under salt stress [J]. Chin J Ecol, 33(12):3176-3183. [黄雍容,林武星,聂森,等,2014.盐胁迫下台湾海桐和台湾栾树抗氧化代谢和有机溶质积累的变化[J].生态学杂志, 33(12):3176-3183.]
- JAVADIAN N, KARIMZADEH G, MAHFOOZI S, et al, 2010. Cold-induced changes of enzymes, proline, carbohydrates, and chlorophyll in wheat [J]. Russ J Plant Physiol, 57(4):540-547.
- JI FT, LI N, DENG X, 2009. Calcium contents and high calcium adaptation of plants in karst areas of China [J]. Chin J Plant Ecol, 33(5): 926-935. [姬飞腾,李楠,邓馨,2009.喀斯特

- 地区植物钙含量特征与高钙适应方式分析[J].植物生态学报, 33(5): 926-935.]
- JI ZB, WANG JX, LI JW, et al, 2009. Dynamic changes of soluble sugar in the seedlings of *Robinia pseudoacacia* under drought stress and rewatering in different seasons [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 29(7): 1358-1363. 吉增宝, 王进鑫, 李继文, 等, 2009. 不同季节干旱及复水对刺槐幼苗可溶性糖含量的影响[J]. 西北植物学报, 29(7):1358-1363.]
- JING DW, XING SJ, DU ZY, et al, 2013. Effects of drought stress on the growth, photosynthetic characteristics, and active oxygen metabolism of poplar seedlings [J]. Chin J Appl Ecol, 24(7): 1809-1816. [井大炜, 邢尚军, 杜振宇, 等, 2013. 干旱胁迫对杨树幼苗生长、光合特性及活性氧代谢的影响[J]. 应用生态学报, 24(7):1809-1816.]
- LIANG Y, CHEN Q, LIU Q, et al, 2003. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.) [J]. J Plant Physiol, 160(10):1157-1164.
- LIU YL, LI TL, SUN ZP, et al, 2010. Impacts of root-zone hypoxia stress on muskmelon growth, its root respiratory metabolism, and antioxidative enzyme activities [J]. Chin J Appl Ecol, 21(6): 1439-1445. [刘义玲, 李天来, 孙周平, 等, 2010. 根际低氧胁迫对网纹甜瓜生长、根呼吸代谢及抗氧化酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 21(6):1439-1445.]
- LONG MH, TANG XF, YU WJ, et al, 2005. Effects of different calcium levels on photosynthesis and protective enzyme activities of melon leaves [J]. Guihaia, 25(1):77-82. [龙明华, 唐小付, 于文进, 等, 2005. 不同钙素水平对厚皮甜瓜叶片光合作用和保护酶活性的影响[J]. 广西植物, 25(1): 77-82.]
- LUO XQ, WANG SJ, ZHANG GL, et al, 2013. Effects of calcium concentration on photosynthesis characteristics of two fern plants [J]. Ecol Environ Sci, 22(2): 258-262. [罗绪强, 王世杰, 张桂玲, 等, 2013. 钙离子浓度对两种蕨类植物光合作用的影响[J]. 生态环境学报, 22(2): 258-262.]
- LÜ XG, ZHOU MD, LI M, 2016. Effects of low temperature stress on growth and physiological characteristics of grafted and own root melon seedlings [J]. Chin Veget, (5):53-57. [吕星光, 周梦迪, 李敏, 2016. 低温胁迫对甜瓜嫁接苗和自根苗生长及生理特性的影响[J]. 中国蔬菜, (5): 53-57.]
- MA C, WANG Z, KONG B, et al, 2013. Exogenous trehalose differentially modulate antioxidant defense system in wheat callus during water deficit and subsequent recovery [J]. Plant Growth Regul, 70(3): 275-285.
- PENG WX, WANG KL, SONG TQ, et al, 2008. Controlling and restoration models of complex degradation of vulnerable karst ecosystem [J]. Acta Ecol Sin, 28(2): 0811-0820. [彭晚霞, 王克林, 宋同清, 等, 2008. 喀斯特脆弱生态系统复合退化控制与重建模式[J]. 生态学报, 28(2):0811-0820.]
- SCHMID I, 2002. The influence of soil type and interspecific competition on the fine root system of Norway spruce and European beech [J]. Basic Appl Ecol, 3(4):339-346.
- SONG TQ, PENG WX, DU H, et al, 2014. Occurrence, spatial-temporal dynamics and regulation strategies of karst rocky desertification in southwest China [J]. Acta Ecol Sin, 34(18): 5328-5341. [宋同清, 彭晚霞, 杜虎, 等, 2014. 中国西南喀斯特石漠化时空演变特征、发生机制与调控对策[J]. 生态学报, 34(18): 5328-5341.]
- WANG ST, 1986. Experimental guide for plant physiology [M]. Xi'an: Shaanxi Science and Technology Press. [王韶唐. 1986. 植物生理学实验指导[M]. 西安: 陕西科技出版社.]
- WANG ZX, ZHU JM, WANG J, et al, 2012. The response of photosynthetic characters and biomass allocation of *P. bournei* young trees to different light regimes [J]. Acta Ecol Sin, 32(12): 3841-3848. [王振兴, 朱锦懋, 王健, 等, 2012. 闽楠幼树光合特性及生物量分配对光环境的响应[J]. 生态学报, 32(12): 3841-3848.]
- WENG M, CUI L, Liu F, et al, 2015. Effects of drought stress on antioxidant enzymes in seedlings of different wheat genotypes [J]. Pakistan J Bot, 47(1): 49-56.
- WHITE PJ, BROADLEY MR, 2003. Calcium in plants [J]. Ann Bot, 92(4):487-511.
- YANG CX, LI XL, GAO DS, et al, 2005. Effects of chilling stress on membrane lipid peroxidation and activities of protective enzymes in nectarine flower organs [J]. J Fruit Sci, 22(1): 69-71. [杨春祥, 李宪利, 高东升, 等, 2005. 低温胁迫对油桃花器官膜脂过氧化和保护酶活性的影响[J]. 果树学报, 22(1): 69-71.]
- YANG HT, LI XR, LIU LC, et al, 2013. Biomass allocation patterns of four shrubs in desert grassland [J]. J Desert Res, 33(5): 1340-1348. [杨昊天, 李新荣, 刘立超, 等, 2013. 荒漠草地4种灌木生物量分配特征[J]. 中国沙漠, 33(5):1340-1348.]
- YI XY, JIANG LJ, CHEN JZ, et al, 2016. Effects of lead/zinc tailings on photosynthetic characteristics and antioxidant enzyme system of *Ricinus communis* L. [J]. Chin J Ecol, 35(4): 880-887. [易心钰, 蒋丽娟, 陈景震, 等, 2016. 铅锌尾矿渣对蓖麻光合特性及抗氧化酶系统的影响[J]. 生态学杂志, 35(4): 880-887.]
- ZHANG Y, ZHAO LC, WANG HQ, et al, 2014. Effects of salt stress on growth and antioxidant enzyme activity of *Kosteletzkyia virginica* seedlings [J]. Jiangsu Agric Sci, 42(7): 370-372. [张栋, 赵龙春, 王洪芹, 等, 2014. 盐胁迫对海滨锦葵幼苗生长及抗氧化酶活性的影响[J]. 江苏农业科学, 42(7): 370-372.]
- ZHOU F, WANG J, YANG N, 2015. Growth responses, antioxidant enzyme activities and lead accumulation of *Sophora japonica*, and *Platycladus orientalis*, seedlings under Pb and water stress [J]. Plant Growth Regul, 75(1): 383-389.
- ZHU XC, SONG FB, LIU FL, et al, 2015. Carbon and nitrogen metabolism in arbuscular mycorrhizal maize plants under low-temperature stress [J]. Crop Past Sci, 66(1): 62-70.