

硝酸钙胁迫对南瓜幼苗生长和膜脂过氧化的影响

韩志平¹,张海霞²,李林霞¹,王晓琳¹

(1. 山西大同大学 生命科学学院,山西 大同 037009; 2. 山西大同大学 后勤管理处,山西 大同 037009)

摘要:以温室专用南瓜品种蜜冠为材料,采用砂培法,研究了不同浓度Ca(NO₃)₂胁迫对南瓜幼苗生长和膜脂过氧化的影响。结果表明,随着Ca(NO₃)₂浓度提高(0~100 mmol/L),南瓜幼苗株高、茎粗、根长、叶片数及植株干质量和鲜质量均显著降低;0~75 mmol/L Ca(NO₃)₂条件下,叶绿素a、叶绿素b、类胡萝卜素和丙二醛含量及质膜相对透性显著增加,抗坏血酸含量则显著降低。表明Ca(NO₃)₂胁迫造成了南瓜幼苗膜脂过氧化伤害,而幼苗的抗氧化能力降低,使南瓜幼苗生长受到严重抑制。

关键词:南瓜;Ca(NO₃)₂胁迫;光合色素;膜脂过氧化

中图分类号: S642.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2015)05-0117-04

Effect of Calcium Nitrate Stress on Growth and Lipid Peroxidation of Pumpkin Seedlings

HAN Zhiping¹,ZHANG Haixia²,LI Linxia¹,WANG Xiaolin¹

(1. School of Life Science,Shanxi Datong University,Datong 037009,China;
2. Department of Logistics,Shanxi Datong University,Datong 037009,China)

Abstract: With greenhouse special pumpkin cultivar honey crown as material, the effects of different concentrations of Ca(NO₃)₂ stress on the growth and lipid peroxidation of pumpkin seedlings in sand culture were studied. The results showed that with the increase of Ca(NO₃)₂ concentrations (0—100 mmol/L), the plant height, stem diameter, root length, leaf number, plant dry and fresh biomass of pumpkin seedlings significantly reduced; the contents of chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoid, MDA, and plasma membrane permeability significantly increased (0—75 mmol/L), the ASA content significantly decreased. The research indicated that Ca(NO₃)₂ stress resulted in the lipid peroxidation damage, in the meantime, reduced the antioxidant capacity of the pumpkin seedlings, severely inhibited the growth of pumpkin seedlings.

Key words: pumpkin; Ca(NO₃)₂ stress; photosynthetic pigments; lipid peroxidation

近30 a来,我国设施蔬菜发展迅速,栽培面积从1982年的1.03×10⁴ hm²发展到2010年的3.44×10⁶ hm²,成为世界上设施蔬菜栽培面积和总产量最大的国家^[1]。但由于大量集中施用化肥,加上土壤长期得不到雨水淋洗,盐分不断向土壤表层聚集,随着使用年限增加,土壤次生盐渍化日益严重,已经成为设施栽培中普遍存在而难以解决的问题^[2]。研

究表明,设施内盐渍化土壤中阳离子以Ca²⁺为主,约占阳离子总量的60%以上,阴离子以NO₃⁻为主,约占阴离子总量的67%~76%^[3]。因此,Ca(NO₃)₂大量积累既是设施土壤次生盐渍化的主要特征,也是造成设施作物生长障碍的主导因子。但是目前国内有关Ca(NO₃)₂胁迫对植物伤害机制的研究很少,对瓜类蔬菜影响的研究报道更少。

收稿日期:2014-12-21
基金项目:山西省高校科技研究开发项目(20121107);大同市农业科技攻关项目(201468-2);山西大同大学博士科研资助项目(2008-B-28);山西大同大学研究所科研资助项目(2009-Y-14)
作者简介:韩志平(1976-),男,山西孟县人,副教授,博士,主要从事植物逆境生理与分子生物学研究。
E-mail: hanzhiping0215@163.com

南瓜 (*Cucurbita moschata* D.) 属葫芦科南瓜属 1 年生草本植物,既有较高的食用价值,也有重要的食疗作用,在我国不仅露地广泛种植,温室、大棚栽培面积也在逐年增加。但是南瓜是非盐生作物,设施土壤次生盐渍化严重影响了南瓜的生长发育,使南瓜的产量和品质显著降低^[4]。研究南瓜植株在盐渍条件下的生长和生理变化,采用合适的措施提高其抗盐性具有重要意义。为此,研究了 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫对砂培南瓜幼苗生长和膜脂过氧化的影响,为进一步研究 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫对南瓜植株伤害的生理和分子机制奠定基础。

1 材料和方法

1.1 供试材料

试验于 2012 年 4—5 月在山西大同大学生命科学实验教学中心进行。供试材料为河北省盛农种子公司提供的温室专用南瓜品种蜜冠。

1.2 试验方法

选取饱满、整齐一致的种子,用 55 ℃ 温水烫种 15 min 后在清水中浸种 6 h,然后在培养箱中 28 ℃ 下避光催芽。种子萌发后播于装有石英砂的塑料盘中育苗,保持昼温 25 ~ 28 ℃,夜温 18 ~ 22 ℃,每天浇清水保持基质湿润。待子叶展平后,于每日 18:00 喷施含有 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 处理液的 1/2 倍 Hoagland 营养液。试验共设 6 个处理,CK:喷施正常营养液;Ca1 ~ Ca5:分别喷施含有 25、50、75、100、125 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 的营养液。完全随机设计,重复 3 次,每重复 21 株。

处理 5 d 后开始统计各处理死苗率。处理 15 d 时,取生长点下第 2 片完全展开叶测定相关生理指标,然后每重复取 10 株幼苗,测定相关生长指标。

1.3 指标测定

1.3.1 生长指标 以子叶节到生长点的长度为株高;以与子叶展开方向平行的子叶节的直径为茎粗;以根茎结合处到整株最长根根尖的长度为根长;记录叶片完全展开且叶长超过 3 cm 的叶片数。幼苗洗净后吸干水分,从根茎结合处剪断分为地上部和根系,称量鲜质量;在烘箱中 105 ℃ 杀青 30 min 后降温到

70 ℃ 烘干至恒定质量,称量干质量。

1.3.2 生理指标 光合色素提取参照沈伟其^[5]的方法,打孔取叶圆片置于乙醇、丙酮混合液中,在黑暗下提取 24 h,测定吸光度值并计算叶绿素 a (Chla)、叶绿素 b (Chlb) 和类胡萝卜素 (Car) 含量^[6]。质膜透性用电导率仪测定,以相对电导率表示^[7];丙二醛 (MDA) 含量的测定采用硫代巴比妥酸法^[8];抗坏血酸 (AsA) 含量的测定采用赵会杰^[9]的方法。

数据用 DPS 软件进行方差分析,以 Duncan's 新复极差法进行平均数间的多重比较。

2 结果与分析

2.1 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫对南瓜幼苗生长的影响

2.1.1 形态指标和死苗率 由表 1 可知,南瓜幼苗株高、茎粗、根长、叶片数等形态指标均随 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 浓度的提高而显著降低。25、50、75、100 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫下,株高、茎粗、根长和叶片数分别比 CK 降低 3.14%、4.05%、17.08%、4.92%、6.28%、11.56%、22.97%、13.42%、12.45%、28.90%、31.96%、20.36% 和 16.32%、31.79%、36.23%、25.95%。100、125 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫于处理 5 d 时开始出现死苗,处理 15 d 时 100 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫的幼苗死亡近 70%,125 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫的幼苗全部死亡。因此,未测定 100、125 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫的生理指标及 125 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫的生长指标。

2.1.2 生物量积累 由表 2 可知,25 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 处理使南瓜幼苗地上部鲜质量、干质量略有降低,根系鲜质量则略有增加;50 ~ 100 mmol/L 时,地上部鲜质量、干质量和根系鲜质量、干质量均随 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 浓度的提高而显著降低。50、75、100 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫下,地上部鲜质量、干质量和根系鲜质量、干质量分别比 CK 降低 23.18%、17.20%、0.63%、47.83%、51.05%、43.31%、15.05%、65.22% 和 70.03%、56.69%、19.75%、73.91%。结合形态指标数据,说明 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫抑制了南瓜幼苗的生长,且 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 浓度越大,生长抑制程度越大。

表 1 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫对南瓜幼苗形态指标和死苗率的影响

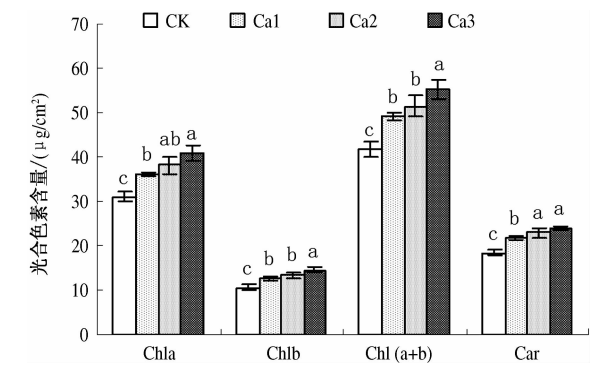
处理	株高/cm	茎粗/cm	根长/cm	叶片数/片	死苗率/%
CK	9.56 ± 0.36a	0.346 ± 0.044a	6.79 ± 0.96a	4.47 ± 0.56a	0.00
Ca1	9.26 ± 0.29ab	0.332 ± 0.035ab	5.63 ± 1.06b	4.25 ± 0.43ab	0.00
Ca2	8.96 ± 0.28b	0.306 ± 0.024b	5.23 ± 0.74bc	3.87 ± 0.46abc	5.00
Ca3	8.37 ± 0.14c	0.246 ± 0.029c	4.62 ± 0.56c	3.56 ± 0.37bc	28.57
Ca4	8.00 ± 0.26d	0.236 ± 0.012c	4.33 ± 0.45c	3.31 ± 0.35c	66.67
Ca5					100.00

注:数据后小写字母不同表示处理间差异达到 5% 显著水平,下表同。

表 2 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫对南瓜幼苗生物量的影响				
处理	地上部鲜质量/g	地上部干质量/g	根系鲜质量/g	根系干质量/g
CK	$3.434 \pm 0.535\text{a}$	$0.314 \pm 0.034\text{a}$	$0.319 \pm 0.052\text{ab}$	$0.023 \pm 0.004\text{a}$
Ca1	$3.194 \pm 0.457\text{a}$	$0.300 \pm 0.032\text{a}$	$0.357 \pm 0.062\text{a}$	$0.023 \pm 0.003\text{a}$
Ca2	$2.638 \pm 0.330\text{b}$	$0.260 \pm 0.050\text{b}$	$0.317 \pm 0.034\text{ab}$	$0.012 \pm 0.004\text{b}$
Ca3	$1.681 \pm 0.316\text{c}$	$0.178 \pm 0.033\text{c}$	$0.271 \pm 0.048\text{bc}$	$0.008 \pm 0.002\text{c}$
Ca4	$1.029 \pm 0.191\text{d}$	$0.136 \pm 0.013\text{c}$	$0.256 \pm 0.042\text{c}$	$0.006 \pm 0.001\text{c}$

2.2 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫对南瓜幼苗叶片光合色素含量的影响

叶片光合色素的含量是反映植物光合能力的一个重要参数。图 1 显示,在 0 ~ 75 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 下,南瓜幼苗叶片中 Chla、Chlb 和 Car 含量均随 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 浓度的提高而显著增加。25、50 和 75 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫下,Chla、Chlb、Car 含量分别比 CK 增加 16.88%、19.74%、17.19%、23.04%、



相同指标下不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$), 下图同
图 1 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫对南瓜幼苗叶片光合色素含量的影响

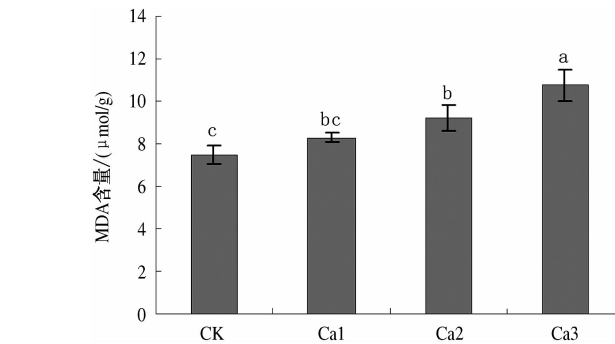


图 2 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫对南瓜幼苗叶片 MDA 含量和相对电导率的影响

2.4 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫对南瓜幼苗叶片抗坏血酸含量的影响

抗坏血酸是植物体内清除活性氧自由基的非酶抗氧化剂,其含量的多少可用来表示植株抗氧化能力的大小^[12]。图 3 显示,南瓜幼苗叶片的抗坏血酸含量随 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 浓度的提高而显著降低。25、50、75 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫下,抗坏血酸含量分别比 CK 降低 14.07%、34.19%、43.43%。说明 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫下南瓜幼苗的抗氧化能力降低,且随胁迫程度加重,植株的抗氧化能力不断下降。

26.00%、24.99% 和 31.49%、37.26%、30.15%。试验还观察到,100 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫下,南瓜幼苗叶片发黄,叶缘干枯。这些结果说明,较低浓度 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 处理有利于南瓜叶片光合色素的合成,较高浓度胁迫则会促进光合色素的降解。

2.3 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫对南瓜幼苗叶片膜脂过氧化的影响

盐胁迫下,植物细胞膜中的不饱和脂肪酸被过氧化形成 MDA,导致细胞膜结构破坏、透性加大,电解质大量渗漏。因此,MDA 含量和质膜相对透性可用来衡量膜脂过氧化伤害的程度^[10-11]。由图 2 可知,南瓜幼苗叶片中 MDA 含量和质膜相对透性随 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 浓度的提高而显著增加。25、50、75 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫下,MDA 含量和相对电导率分别比 CK 增加 11.04%、47.81%、23.61%、85.67%、44.36%、109.09%。说明 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫造成的膜脂过氧化使南瓜幼苗的细胞膜透性增大,质膜伤害加重。

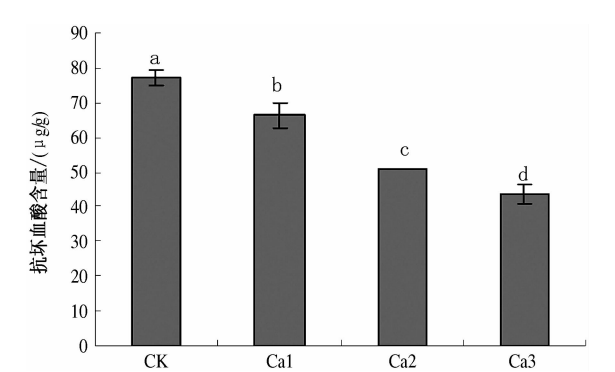
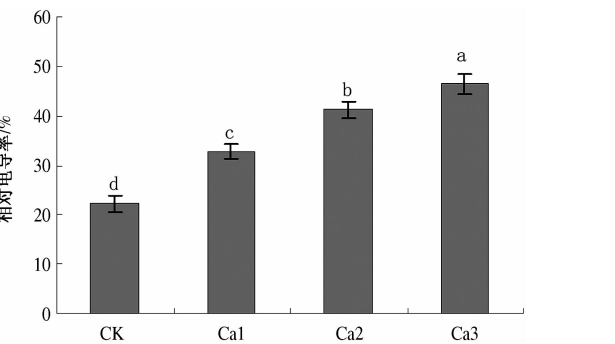


图 3 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫对南瓜幼苗叶片抗坏血酸含量的影响

3 结论与讨论

盐胁迫对非盐生植物最显著的影响是抑制其生长发育^[13]。本研究中, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫显著抑制了南瓜幼苗的生长, 不仅影响其形态建成, 而且影响其生物量积累。100 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫下死苗率超过 50%, 说明 100 mmol/L 是南瓜幼苗 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫的致死浓度, 南瓜幼苗在此浓度下已经完全丧失了抗盐性。

许多研究表明, 植物在盐胁迫下叶片光合色素含量降低^[14], 但也有报道, 一定浓度盐胁迫下植物叶片光合色素含量增加^[15]。本研究中, 25 ~ 75 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 处理使南瓜叶片各光合色素含量增加, 100 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫则使叶片发黄, 说明 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫干扰了南瓜幼苗叶片光合色素的合成和降解, 较低浓度 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 处理可以促进南瓜叶片光合色素的合成, 较高浓度 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫则会抑制光合色素的合成而促进其降解。

植物在盐胁迫下, 细胞内 O_2^- 、 H_2O_2 、 $\cdot\text{OH}$ 等活性氧大量产生, 使膜脂双分子层中的不饱和脂肪酸过氧化^[16], 导致其终产物 MDA 大量增加, 同时细胞膜结构破坏、选择透性丧失。植物细胞可通过激活 SOD、POD、CAT 等酶系统和产生抗坏血酸、谷胱甘肽等非酶抗氧化剂, 清除体内产生的活性氧^[17], 缓解胁迫造成的过氧化损伤。本研究中, 随着 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 处理浓度提高, 南瓜幼苗叶片 MDA 含量和质膜相对透性均显著增加, 抗坏血酸含量则显著降低, 说明 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫造成了南瓜幼苗膜脂过氧化加剧, 细胞膜系统的完整性受到严重破坏, 同时幼苗自身的抗氧化能力不断降低, 无法清除胁迫产生的大量活性氧, 使南瓜植株受到严重伤害。

综上所述, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 胁迫使南瓜叶片光合色素合成受到干扰, 膜脂过氧化加重, 抗氧化能力下降, 严重抑制了南瓜幼苗的生长, 甚至导致南瓜幼苗死亡。因此, 在南瓜设施栽培中, 迫切需要通过育种手段选育耐盐品种和采用合适的栽培管理措施提高其耐盐性。

参考文献:

[1] 郭世荣, 孙锦, 束胜, 等. 我国设施园艺概况及发展趋势[J]. 中国蔬菜, 2012(18): 1-14.

[2] 李刚, 张乃明, 毛昆明, 等. 大棚土壤盐分累积特征与调控措施研究[J]. 农业工程学报, 2004, 20(3): 44-47.

[3] 杨晓玉, 胡淳淳, 王秀峰, 等. 硝酸盐胁迫对黄瓜幼苗生长及镁、铁、铜、锰、锌含量的影响[J]. 山东农业科学, 2008(8): 61-67.

[4] 周俊国, 朱月林, 杨立飞, 等. NaCl 胁迫下中国南瓜杂交种和黑籽南瓜植株离子吸收与积累特性研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2008, 14(3): 546-551.

[5] 沈伟其. 测定水稻叶片叶绿素含量的混合液提取法[J]. 植物生理学通讯, 1988(3): 62-64.

[6] 王素平, 郭世荣, 胡晓辉, 等. 盐胁迫对黄瓜幼苗叶片光合色素含量的影响[J]. 江西农业大学学报, 2006, 28(2): 32-38.

[7] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 258-260.

[8] Madhava R K V, Sresty T V S. Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses [J]. Plant Science, 2000, 157: 113-128.

[9] 赵会杰. 抗坏血酸含量及抗坏血酸过氧化物酶活性的测定[M]//中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999: 315-316.

[10] Cavalcanti F R, Lima J P M S, Ferreira-Silva S L, et al. Roots and leaves display contrasting oxidative response during salt stress and recovery in cowpea [J]. Journal of Plant Physiology, 2007, 164: 591-600.

[11] 张亚冰, 刘崇怀, 潘兴, 等. 盐胁迫下不同耐盐性葡萄砧木丙二醛和脯氨酸含量的变化[J]. 河南农业科学, 2006(4): 84-86.

[12] Valentina M. Activities of SOD and the ascorbate-glutathione cycle enzymes in subcellular compartments in leaves and roots of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* [J]. Plant Physiology, 2000, 33: 65-67.

[13] Zhu J K. Plant salt tolerance [J]. Trends in Plant Science, 2001, 6(2): 66-71.

[14] 张其德. 盐胁迫对植物及其光合作用的影响[J]. 植物杂志, 2000(1): 28-29.

[15] 段九菊, 郭世荣. 外源亚精胺对 NaCl 胁迫下黄瓜幼苗耐盐性的影响[J]. 中国蔬菜, 2005(12): 8-10.

[16] Parida A K, Das A B. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2005, 60: 324-349.

[17] Raza H S, Athar R H, Ashraf M, et al. Glycinebetaine-induced modulation of antioxidant enzymes activities and ion accumulation in two wheat cultivars differing in salt tolerance [J]. Environmental and Experimental Botany, 2007, 60: 368-376.