

## 木麻黄幼苗对模拟酸雨胁迫的响应和 $\text{Ca}^{2+}$ 的调节作用

周希琴\*

肇庆学院生物学系, 广东肇庆 526061

**提要** 随着酸雨 pH 值的下降, 木麻黄幼苗中超氧化物歧化酶(SOD)活性、叶绿素含量和叶绿素 a/b 值逐渐下降, 过氧化物酶(POD)活性、可溶性蛋白质含量、丙二醛(MDA)含量和超氧阴离子自由基( $\text{O}_2^-$ )含量逐渐增加, 过氧化氢酶(CAT)活性和脯氨酸含量先升后降。在同一强度酸雨胁迫下, 经 0.1 和 1  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  处理的 SOD 活性、CAT 活性、叶绿素含量和叶绿素 a/b 值相对较高, POD 活性、蛋白质含量、MDA 含量、 $\text{O}_2^-$  含量和脯氨酸含量相对较低,  $\text{Ca}^{2+}$  可缓解酸雨对木麻黄幼苗的伤害。

**关键词**  $\text{Ca}^{2+}$ ; 模拟酸雨胁迫; 木麻黄幼苗; 生理响应

## Response to Simulated Acid Rain Stress in *Casuarina equisetifolia* Seedlings and Regulation of $\text{Ca}^{2+}$

ZHOU Xi-Qin\*

Department of Biology, Zhaoqing College, Zhaoqing, Guangdong 526061, China

**Abstract** Under simulated acid rain, the activity of superoxide dismutase (SOD), the chlorophyll content and chlorophyll a/b ratio decreased gradually. The activity of peroxidase (POD) and the soluble protein, malondialdehyde (MDA) and superoxide anion ( $\text{O}_2^-$ ) contents increased. The activity of catalase (CAT) and the proline content increased firstly and decreased afterwards. However, under the same acid rain coercion, in the *Casuarina equisetifolia* seedlings pretreated with 0.1 and 1  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , the activities of SOD and CAT, the chlorophyll content and chlorophyll a/b ratio increased relatively; the activity of POD and the soluble protein, MDA,  $\text{O}_2^-$  and proline contents decreased relatively. The  $\text{Ca}^{2+}$  pretreatment could reduce the harmful effect of acid rain on *Casuarina equisetifolia* seedlings.

**Key words**  $\text{Ca}^{2+}$ ; simulated acid rain stress; *Casuarina equisetifolia* seedlings; physiological effect

我国是世界上酸雨的重灾区之一, 其面积已占国土面积的 40% 左右<sup>[1]</sup>, 不同程度地对森林、水体和农田生态系统造成伤害。因此, 人们对植物在酸雨条件下的各种反应及其机制作了大量工作<sup>[1~5]</sup>, 相比之下, 有关钙对酸雨胁迫效应的研究较少<sup>[6~8]</sup>, 而对木麻黄幼苗抗酸雨的生理效应目前未见报道。本文研究酸雨胁迫下木麻黄幼苗生理生化变化及  $\text{Ca}^{2+}$  对酸雨胁迫的生理效应, 为减轻酸雨对作物苗期的伤害和采用防护措施提供参考。

### 材料与方 法

实验材料为普通木麻黄(*Casuarina equisetifolia*)品种“惠安 1 号”。苗高 12~40 cm 时移植入盆, 每盆装 5 kg 固土和沙土的混合土, 每盆植 3 株, 放在温室中培养。约 3 d 浇水 1 次, 培养温度: 白天 26~38℃, 黑夜 25~30℃。培养 3

个月后, 作模拟酸雨胁迫和  $\text{Ca}^{2+}$  处理。分析纯  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  配成 0、0.01、0.1、1、10  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  溶液。模拟自然降雨中各种离子浓度(酸雨中离子浓度, 单位:  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )为:  $\text{K}^+$  15,  $\text{Na}^+$  18,  $\text{Ca}^{2+}$  50,  $\text{Mg}^{2+}$  15.5,  $\text{NH}_4^+$  40.5,  $\text{H}^+$  36.5,  $\text{O}_4^{2-}$  140,  $\text{NO}_3^-$  21,  $\text{Cl}^-$  7.5,  $\text{F}^-$  7, 用稀硫酸液配制酸雨<sup>[2]</sup>, pH 值分别为 4.5、4.0、3.5、3.0、2.5 和 6.5(对照)。以医用喷雾器将各种浓度  $\text{Ca}^{2+}$  均匀喷洒于木麻黄幼苗上, 以滴水为度; 钙处理后 24 h, 将酸雨均匀喷洒于整株幼苗上, 根据自然降雨量的平均数进行喷洒, 每周 2~3 次, 每次酸雨量 10 mm, 每处理 6 个重复。处理 90 d 后取幼苗测定各种生理指标。

收稿 2005-01-11 修定 2005-04-21

资助 肇庆市科技创新项目(2005003)。

\*E-mail: zhouxinqin666@163.com, Tel: 0758-2811052

制备酶液时, 从各实验组分别取 1 g 木麻黄幼苗的叶片, 加入适量 62.5 mmol·L<sup>-1</sup> 磷酸缓冲液 (pH 7.8) 于冰浴中研磨, 以 14 000×g 于 4℃ 下离心 15 min, 上清液用于测定超氧化物歧化酶 (super-oxide dismutase, SOD)、过氧化物酶 (peroxidase, POD) 和过氧化氢酶 (catalase, CAT) 活性, 可溶性蛋白质、超氧阴离子 (O<sub>2</sub><sup>-</sup>)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量。可溶性蛋白质含量测定用考马斯亮蓝 G-250 染色法<sup>[9]</sup>。SOD 活性用 NBT 光还原法<sup>[10]</sup> 测定。POD 活性用愈创木酚法<sup>[11]</sup> 测定。CAT 活性用碘量法<sup>[12]</sup> 测定。叶绿素含量及 a/b 值测定用丙酮乙醇浸提法<sup>[13]</sup>。脯氨酸含量用酸性茚三酮法<sup>[14]</sup> 测定。O<sub>2</sub><sup>-</sup> 按照文献 14 的方法测定。MDA 含量用硫代巴比妥酸法<sup>[15]</sup> 测定。

## 结果与讨论

### 1 酸雨胁迫下木麻黄幼苗 3 种保护酶活性变化和 Ca<sup>2+</sup> 的作用

图 1 显示:

(1) 随着酸雨胁迫强度 (酸度) 的增加, 木麻黄幼苗的 SOD 活性逐渐下降; POD 酶活性上升; CAT 活性先逐渐上升, 到 pH 值 3.5 时, 上升到最高点, pH 值增强到 2.5 时, CAT 活性即受抑制并急速下降。

(2) 在同一强度酸雨胁迫下, Ca<sup>2+</sup> 处理的木麻黄幼苗 SOD 活性随着 Ca<sup>2+</sup> 浓度的增加而升高, 1 mmol·L<sup>-1</sup> Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 处理的活性最高; 0.1 和 1 mmol·L<sup>-1</sup> Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 处理的 POD 酶活性较其他 Ca<sup>2+</sup> 处理的明显下降; 除 pH 值 2.5 的酸雨胁迫外, 同一强度酸雨胁迫下, 0.1 和 1 mmol·L<sup>-1</sup> Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 处理的 CAT 酶活性较其他 Ca<sup>2+</sup> 处理的明显升高。这表明, 适当浓度的 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 能增强酸雨胁迫下木麻黄幼苗清除氧自由基的能力。

### 2 酸雨胁迫下木麻黄幼苗叶绿素含量及叶绿素 a/b 值的变化和 Ca<sup>2+</sup> 的作用

图 2 结果表明, 随着酸雨 pH 值的降低, 叶绿素含量逐渐下降, 叶绿素 a/b 值也逐渐降低, pH 值 2.5 时下降到最低点。同一强度酸雨胁迫下, 各种浓度 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 处理的叶绿素含量和叶绿素 a/b 值均有回升, 其中, 0.1 和 1 mmol·L<sup>-1</sup> Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 处理的表现明显。这表明, 适当浓度的 Ca<sup>2+</sup> 对酸雨破坏

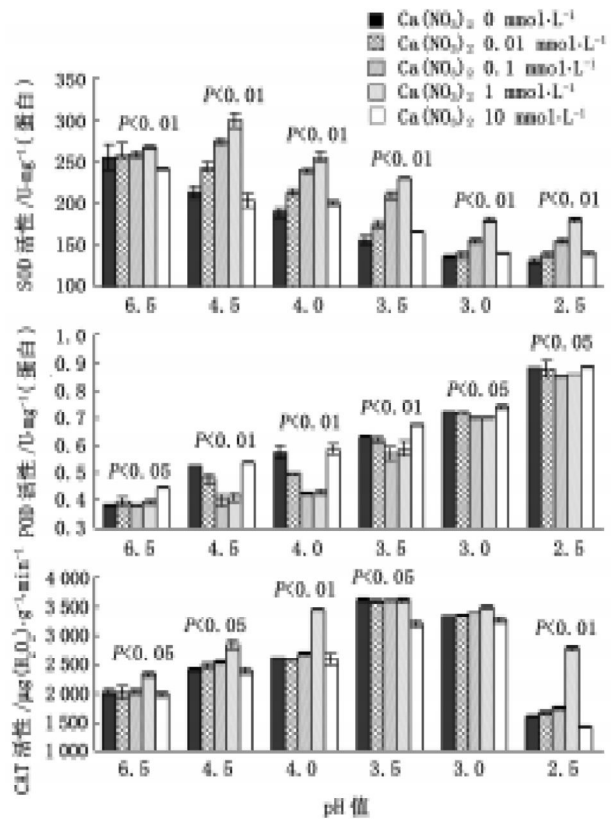


图 1 酸雨对木麻黄幼苗 SOD、POD 及 CAT 活性的影响和 Ca<sup>2+</sup> 的作用

Fig. 1 Effects of acid rain on the activities of the SOD, POD and CAT in *C. equisetifolia* seedlings and regulation of Ca<sup>2+</sup>

叶绿素有一定的保护作用。

### 3 酸雨胁迫下木麻黄幼苗中可溶性蛋白质、MDA、脯氨酸、O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量的变化和 Ca<sup>2+</sup> 的作用

图 3~6 显示:

(1) 在酸雨胁迫下, 随着酸雨酸度的增加, 可溶性蛋白质含量随之升高。除 pH 值 2.5 的酸雨胁迫外, 同一强度酸雨胁迫下, 0.1 和 1 mmol·L<sup>-1</sup> Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 处理的可溶性蛋白质含量较其他 Ca<sup>2+</sup> 处理的明显下降。但 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 对 pH 2.5 酸雨胁迫下的可溶性蛋白质含量无影响 (图 3)。

(2) 酸雨胁迫下, 木麻黄幼苗 MDA 含量随着酸雨强度的增加逐渐升高。同一强度酸雨胁迫下, 各种浓度 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 处理的 MDA 含量均有下降, 其中, 在 pH 4.5、4.0 和 3.5 酸雨胁迫下, 0.1 和 1 mmol·L<sup>-1</sup> Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 处理的表现明显 (图 4)。可见, 适宜浓度的 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 阻止 MDA 在植物体

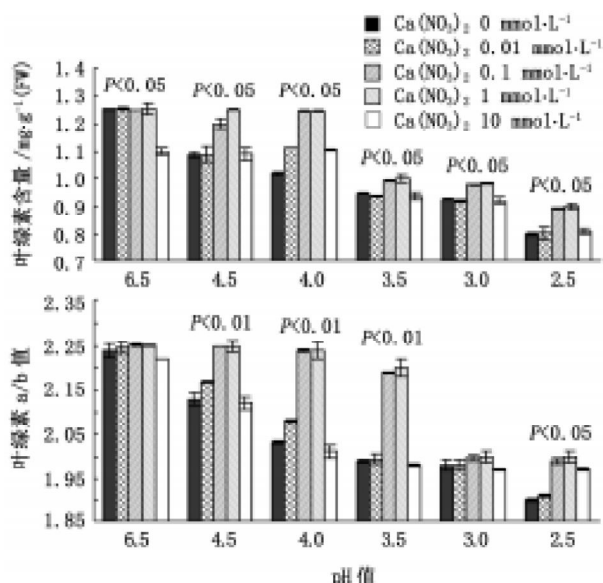


图2 酸雨对木麻黄幼苗叶绿素含量及叶绿素 a/b值的影响和Ca<sup>2+</sup>的作用

Fig. 2 Effects of acid rain on the chlorophyll content and chlorophyll a/b ratio in *C. equisetifolia* seedlings and regulation of Ca<sup>2+</sup>

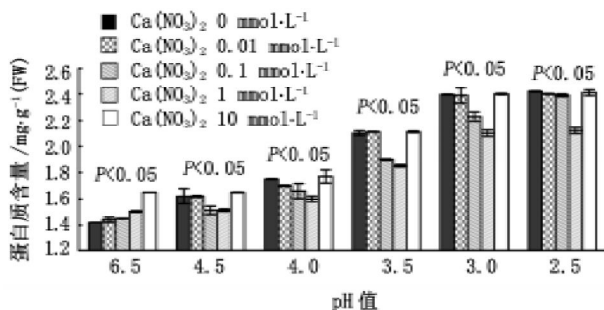


图3 酸雨对木麻黄幼苗可溶性蛋白质含量的影响和Ca<sup>2+</sup>的作用

Fig. 3 Effects of acid rain on the soluble protein content in *C. equisetifolia* seedlings and regulation of Ca<sup>2+</sup>

内的积累, 从而降低其对细胞的毒害作用。

(3) pH 4.5、4.0、3.5酸雨胁迫处理的木麻黄幼苗脯氨酸含量明显高, 但 pH 为 3.0 和 2.5 胁迫处理的木麻黄幼苗脯氨酸含量则低(图5)。这可能与高酸度胁迫损伤幼苗细胞内多种功能膜及酶系统, 造成脯氨酸合成代谢紊乱有关。pH 4.5、4.0、3.5 酸雨胁迫处理下, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 能明显降低脯氨酸含量, 其中 0.1 和 1 mmol·L<sup>-1</sup> Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 处理的表现明显。

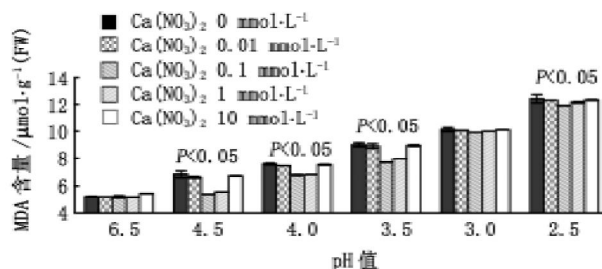


图4 酸雨对木麻黄幼苗MDA含量的影响和Ca<sup>2+</sup>的作用  
Fig. 4 Effects of acid rain on the MDA content in *C. equisetifolia* seedlings and regulation of Ca<sup>2+</sup>

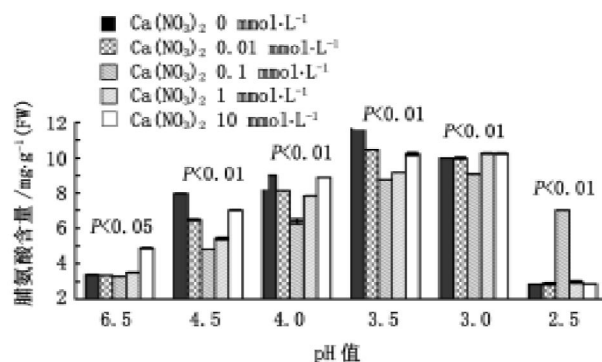


图5 酸雨对木麻黄幼苗脯氨酸含量的影响和Ca<sup>2+</sup>的作用  
Fig. 5 Effects of acid rain on the proline content in *C. equisetifolia* seedlings and regulation of Ca<sup>2+</sup>

(4) 随着酸雨酸度的增加, 木麻黄幼苗中 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量逐渐增加。除 pH 2.5 酸雨胁迫处理外, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 明显降低 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量, 其中 0.1 和 1 mmol·L<sup>-1</sup> Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 处理的表现明显(图6)。这显示酸雨胁迫能够影响植物体内活性氧代谢系统的平衡<sup>[2, 14]</sup>, 而适宜浓度的 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 能降低酸雨胁迫下植物体内活性氧的产生, 从而降低 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 对植物细胞的破坏, 缓解酸雨对木麻黄的危害。

酸雨对作物生理影响的机制是其能加剧膜脂的过氧化, 以致膜保护物质降低, 自由基和 MDA 大量积累, 膜透性增加, 因而细胞内含物外渗, 代谢失调; 同时, 由于酸雨的淋洗, 植物叶中的 Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 等阳离子淋洗出来<sup>[16~18]</sup>。钙作为细胞的结构与功能物质, 尤其是第二信使在植物逆境生理中有增强植物的生理功能。外施 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 可补充膜系统流失的钙, 提高膜系统的完整性, 同时 Ca<sup>2+</sup> 还可增强 3 种抗氧化酶活性的相对稳定性, 减少自由基和 MDA 的积累, 所以, 对膜系

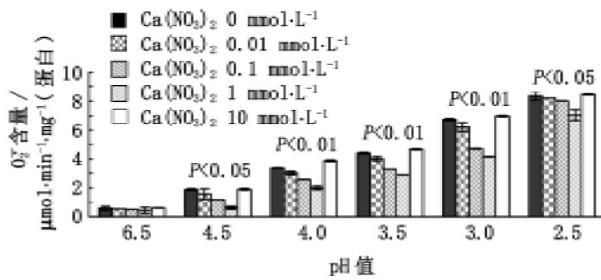


图6 酸雨对木麻黄幼苗 $O_2^-$ 含量的影响和 $Ca^{2+}$ 的作用

Fig.6 Effects of acid rain on the  $O_2^-$  content in *C. equisetifolia* seedlings and regulation of  $Ca^{2+}$

统的破坏表现为抗酸能力增大。另外, 外源 $Ca^{2+}$ 还可能会补偿叶绿体被膜上流失的 $Ca^{2+}$ , 确保PSII电子传递和D1CP光还原反应正常进行<sup>[19,20]</sup>, 缓解叶绿素合成的受抑制, 增加木麻黄幼苗中叶绿素的含量。总之, 外施 $Ca(NO_3)_2$ 可用于化学调控植物代谢, 增强生理功能, 抵御酸雨对木麻黄幼苗的危害。

#### 参考文献

- 吕均良, 李三玉, 黄寿波等. 模拟酸雨对葡萄叶片和花粉的影响. 应用与环境生物学报, 1999, 5(5): 459~463
- 严重玲, 李瑞智, 钟章成等. 模拟酸雨对绿豆、玉米生理生态特性的影响. 应用生态学报, 1995, 6(增版): 124~131
- 黄建昌, 肖艳. 模拟酸雨对6种园林植物的影响. 西南农业大学学报, 2002, 24(4): 360~362
- 王力军. 模拟酸雨致酸土壤对莴苣某些生理性状的影响. 植物生理学通讯, 1991, 27(1): 32~34
- 周希琴. 木麻黄幼苗对酸雨胁迫的生理效应. 山地农业生物学报, 2004, 23(3): 210~215
- 周青, 黄晓华, 陈燕等. 钙对酸雨伤害甜瓜幼苗的影响. 植物生态学报, 1999, 23(2): 186~191
- 邱栋梁, 刘星辉, 郭素枝. 模拟酸雨胁迫下钙对龙眼光合功能的调节作用. 应用生态学报, 2002, 13(9): 1072~1076
- 束良佐, 孙五三.  $Ca^{2+}$ 浸种对酸雨伤害玉米幼苗的影响. 中国环境科学, 2001, 21(2): 185~188
- 李合生主编. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000. 184~185
- Giannopolitis CN, Ries SK. Superoxide dismutase: Purification and quantitative relationship with water solution protein seedling. Plant Physiol, 1977, 59: 315~318
- 张志良主编. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 1990. 154~155
- 山东农学院, 西北农学院. 植物生理学实验指导. 济南: 山东科技出版社, 1980. 109~114
- 陈福明, 陈顺伟. 混合液法测定叶绿素总量的研究. 林业科技通讯, 1984, (2): 4~8
- 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会编. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999. 303, 308~309
- 刘祖祺, 张石诚. 植物抗性生理学. 北京: 中国农业出版社, 1990. 370~372
- Hogan GD. Physiological effects of direct impact of acidic deposition on foliage. Agr Ecosyst Environ 1992, 42: 307~319
- 齐泽民, 王玄德, 宋光煜. 酸雨对植物影响的研究进展. 世界科技研究与发展, 2004, 26(2): 84~90
- 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害. 植物生理学通讯, 1991, 27(2): 84~90
- 孙大业. 植物细胞信号传导研究进展. 植物生理学通讯, 1996, 32(2): 81~91
- Ghanotakis DF, Yocum CF. Photosystem II and oxygen-evolving complex. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1990, 41: 255~276