

钙对NaCl胁迫下马铃薯脱毒苗氮代谢的影响

魏翠果, 张婷婷, 蒙美莲*, 陈有君*, 任少勇, 杨丽辉

内蒙古农业大学农学院, 呼和浩特010019

摘要: 以‘克新一号’品种为试验材料, 采用组织培养方法, 研究了0、5、10、15、20 mmol·L⁻¹ CaCl₂对0、25、50、75 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫下马铃薯脱毒苗氮代谢的影响。结果显示, 随着NaCl胁迫浓度的增加, 马铃薯脱毒苗叶片硝态氮含量先升高后降低, 氨态氮含量持续升高, 全氮和可溶性蛋白含量以及硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)和谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)活性持续下降。在0、25、50 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫下添加10 mmol·L⁻¹ CaCl₂, 以及在75 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫下添加15 mmol·L⁻¹ CaCl₂, 可有效缓解盐胁迫对NR和GS的抑制作用, 显著降低硝态氮和氨态氮含量, 增强氮素同化作用, 显著增加全氮和可溶性蛋白含量, 改善植株氮素营养, 减轻NaCl胁迫对植株的伤害。

关键词: 马铃薯; 钙; NaCl胁迫; 氮代谢

Effects of Calcium on Nitrogen Metabolism of Potato Virus-Free Seedlings under NaCl Stress

WEI Cui-Guo, ZHANG Ting-Ting, MEMG Mei-Lian*, CHEN You-Jun*, REN Shao-Yong, YANG Li-Hui

College of Agricultural, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China

Abstract: The effects of CaCl₂ of 0, 5, 10, 15 and 20 mmol·L⁻¹ in the culture medium on the nitrogen metabolism of potato variety of ‘Kexin No.1’ were investigated under 0, 25, 50 and 75 mmol·L⁻¹ NaCl stress. The results showed that the nitrate content in the leaf of virus-free potato seedling elevated with the increasing of NaCl stress concentration in the range of 0–50, and then declined. The ammonia nitrogen content in leaf increased constantly. The content of total nitrogen, soluble protein, the activity of nitrate reductase (NR) and glutamate synthase (GS) in leaf decreased continually. 10 mmol·L⁻¹ CaCl₂ addition under the stress of 0, 25, 50 mmol·L⁻¹ NaCl, and 15 mmol·L⁻¹ CaCl₂ addition under the stress of 75 mmol·L⁻¹ NaCl could effectively alleviate the inhibitory effect of the salt stress on NR and GS, significantly reduced the nitrate nitrogen and ammonium nitrogen contents, and significantly increased total nitrogen and soluble protein contents. These results indicated that calcium could enhance the nitrogen assimilation, improve plant nitrogen nutrition, and reduce the damage of NaCl stress on the plants.

Key words: potato; calcium; NaCl stress; nitrogen metabolism

据联合国教科文组织和粮农组织的不完全统计, 世界上盐渍土的面积约为 1×10^9 hm², 约占世界土地总面积的10%, 其中亚洲盐渍土的面积约为 3.99×10^8 hm² (杨少辉等2006)。我国盐渍土分布十分广泛, 约有 2.7×10^7 hm², 其中 7×10^6 hm²为农田(刘国花2006)。土壤盐渍化已成为影响作物生产的一个重要因素。近年来, 随着工业的发展, 灌溉用水的质量不断下降, 土壤盐渍化有不断加强的趋势(赵自国和陆静梅2002), 对农业生产造成巨大影响, 使农业可持续发展受到严重威胁。马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)不仅是主要的粮食作物, 而且是很重要的蔬菜及工业与食品加工原料。目前, 我国马铃薯种植面积和鲜薯产量均居世界第一位。但

是, 马铃薯对盐分较敏感, 土壤盐渍化会严重影响马铃薯的生长发育及其产量和品质。因此, 探讨马铃薯抗盐机制和减轻盐害技术对马铃薯抗盐品种的筛选和抗盐栽培技术的制定具有重要的理论和实际意义。

氮素代谢是植物最基本的生理代谢过程之一, 与碳代谢等协调统一共同成为植物生命活动的基本过程。有研究表明, 盐胁迫会降低植物中氮素含量(Parida等2004; 逢焕成等2005), 使植物氮素同

收稿 2013-05-14 修定 2013-07-09

资助 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-10-P17)。

* 共同通讯作者(E-mail: mmeilian@126.com和cyoujun@sina.com; Tel: 0471-4303031)。

化能力降低(王志强等2008), 并且使植物叶片中谷氨酰胺合成酶与硝酸还原酶活性下降(周俊国和扈惠灵2010)。钙作为一种植物必需矿质元素, 是细胞内生理生化反应的第二信使耦联外信号, 也是一种很好的膜保护剂, 对维持细胞壁、细胞膜以及膜结合蛋白的稳定性, 调节无机离子的运输, 调控多种酶活性等起重要作用(丁能飞等2010)。Ca²⁺在植物适应逆境的过程中起着非常重要的作用(Kudla等2010), 外源Ca²⁺可以增强植物的抗盐性, 这已在玉米(Lauchli 1990)、水稻(朱晓军2004)等植物上得到证实。已有研究表明, 钙能明显改善盐胁迫下黄瓜幼苗氮素代谢能力, 缓解盐胁迫对黄瓜的伤害(程玉静等2010)。但是关于钙对NaCl胁迫下马铃薯氮素代谢的调控尚未见报道, 本论文通过研究钙对NaCl胁迫下马铃薯氮代谢相关生理指标的影响, 初步探讨NaCl胁迫下钙对马铃薯的调控作用, 为钙在植物抗盐中的应用提供理论依据和技术参考。

材料与方法

1 试验材料

供试马铃薯品(*Solanum tuberosum* L.)种为‘克新一号’。

2 试验设计

试验设NaCl和CaCl₂两个因素, NaCl设0、25、50和75 mmol·L⁻¹四个浓度, CaCl₂设0、5、10、15和20 mmol·L⁻¹五个浓度, 共20种处理, 重复3次。按设计的处理浓度把NaCl和CaCl₂分别添加到MS+2 mg·L⁻¹ B₉+3%蔗糖+0.9%琼脂培养基中, 制成不同处理组合的培养基。将继代培养的脱毒苗

按单节茎段剪切到培养基中进行培养。培养瓶直径6.5 cm, 每瓶装50 mL培养基, 接入30个茎段, 每个处理20瓶。培养温度(25±1) °C, 光照强度25 μmol·m⁻²·s⁻¹, 每天光照15 h。培养30 d时, 取脱毒苗叶片测定各项生理指标。

3 测定项目与方法

全氮含量采用H₂SO₄-H₂O₂消煮-凯氏定氮法测定, 硝态氮、氨态氮含量测定按照陈因(1999)的测定方法, 可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝G-250法(孔祥生和易现峰2008)进行测定, 硝酸还原酶(NR)活性采用活体法(Tachibana和Konishi 1991)测定, 谷氨酰胺合成酶(GS)活性参照孔祥生和易现峰(2008)的测定方法。

4 数据处理

采用Excel 2003进行数据处理和作图。利用SAS统计软件进行方差分析, 用Duncan's新复极差法对不同处理间进行差异显著性检验。

实验结果

1 钙对NaCl胁迫下马铃薯脱毒苗硝态氮含量的影响

由图1可以看出, 随着NaCl胁迫浓度的增加, 马铃薯脱毒苗叶片NO₃⁻-N含量呈现先增加后降低的趋势, 在浓度为50 mmol·L⁻¹时达到最高, 且极显著高于25和75 mmol·L⁻¹的NaCl处理, 25、50和75 mmol·L⁻¹各NaCl胁迫处理均极显著(P<0.01)高于对照, 分别比对照NO₃⁻-N含量高50.53%、88.42%和51.58%, 但25和50 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫处理间无显著差异。各NaCl胁迫浓度下, 添加不同浓度CaCl₂的处理均极显著(P<0.01)低于未加CaCl₂的处理, 且

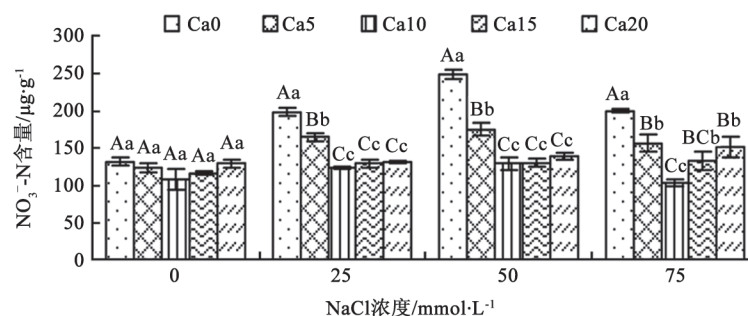


图1 钙对NaCl胁迫下马铃薯叶片硝态氮含量的影响

Fig.1 The effect of calcium on NO₃⁻-N content of potato leaf under NaCl stress

图中Ca0、Ca5、Ca10、Ca15和Ca20分别表示0、5、10、15和20 mmol·L⁻¹ CaCl₂处理。不同小写字母表示达5%的显著水平, 不同大写字母表示达1%的极显著水平。下图同此。

均随CaCl₂浓度的增加呈现先降低后增加的趋势, 在CaCl₂浓度为10 mmol·L⁻¹时降到最低; 无NaCl胁迫时, 不同浓度CaCl₂处理对马铃薯脱毒苗叶片NO₃⁻-N含量的影响无显著差异。

2 钙对NaCl胁迫下马铃薯脱毒苗氨态氮含量的影响

由图2可知, 马铃薯脱毒苗叶片中氨态氮含量随着NaCl胁迫浓度的增加而增加, 各NaCl胁迫处理均极显著($P<0.01$)高于对照, 且各NaCl胁迫处理间差异也达极显著水平($P<0.01$)。同一NaCl胁迫

浓度下, 不同浓度CaCl₂处理马铃薯脱毒苗叶片中氨态氮含量变化规律与NO₃⁻-N相似, 也是随着CaCl₂浓度的增加呈现先降低后增加的趋势, 不同的是0、25和50 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫浓度下, 以10 mmol·L⁻¹ CaCl₂处理马铃薯脱毒苗叶片氨态氮含量最低, 极显著($P<0.01$)低于无CaCl₂的处理, 75 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫下, 15 mmol·L⁻¹ CaCl₂处理氨态氮含量最低, 比未加CaCl₂的处理低19.16%, 差异达极显著水平($P<0.01$)。

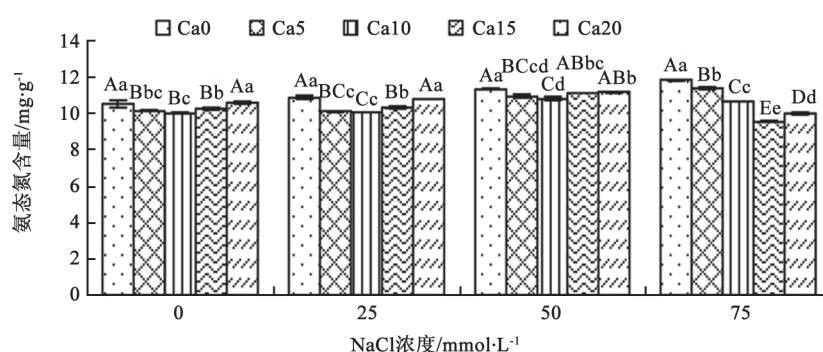


图2 钙对NaCl胁迫下马铃薯叶片氨态氮含量的影响

Fig.2 The effect of calcium on ammonium content of potato leaf under NaCl stress

3 钙对NaCl胁迫下马铃薯脱毒苗全氮含量的影响

由图3可知, 随NaCl胁迫浓度的增加, 叶片全氮含量显著下降。相同NaCl胁迫浓度下, 添加CaCl₂后, 能极显著($P<0.01$)增加叶片中全氮含量, 并且随CaCl₂浓度的增加呈先上升后下降的变化; 在

0、25和50 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫浓度下, 10 mmol·L⁻¹ CaCl₂处理叶片全氮含量最高, 分别较相同NaCl胁迫浓度下的对照增加3.76%、3.25%和2.93%; 75 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫下, 以15 mmol·L⁻¹ CaCl₂处理的叶片全氮含量最高, 较对照增加4.30%。

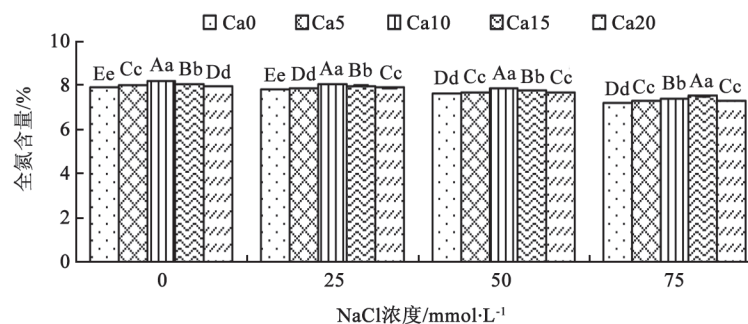


图3 钙对NaCl胁迫下马铃薯叶片全氮含量的影响

Fig.3 The effect of calcium on total nitrogen content of potato leaf under NaCl stress

4 钙对NaCl胁迫下马铃薯脱毒苗可溶性蛋白含量的影响

从图4可以看出, 马铃薯脱毒苗叶片可溶性蛋

白含量随NaCl胁迫浓度的增加显著降低, 25、50和75 mmol·L⁻¹ NaCl处理分别较对照降低1.65、3.48和10.42 mg·g⁻¹, 且各NaCl胁迫浓度间也存在着

显著差异。相同NaCl胁迫浓度下, 马铃薯脱毒苗叶片可溶性蛋白含量随CaCl₂浓度的增加呈现先升高后降低的趋势, 在0、25和50 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫下, 10 mmol·L⁻¹ CaCl₂处理的可溶性蛋白含量最高, 较未加CaCl₂的处理分别增加10.24%、7.66%和

12.90%, 15和20 mmol·L⁻¹ CaCl₂处理的可溶性蛋白含量却低于同一NaCl胁迫浓度下的对照; 75 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫下, 各CaCl₂处理均显著高于无CaCl₂的处理, 且在CaCl₂浓度为15 mmol·L⁻¹时达到最高。

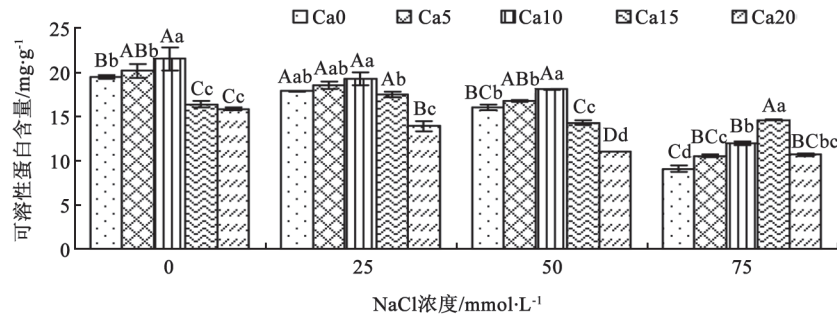


图4 钙对NaCl胁迫下马铃薯叶片可溶性蛋白含量的影响

Fig.4 The effect of calcium on soluble protein content of potato leaf under NaCl stress

5 钙对NaCl胁迫下马铃薯脱毒苗硝酸还原酶活性的影响

如图5所示, 随NaCl胁迫浓度的增加, 马铃薯脱毒苗叶片NR活性逐渐降低, 25、50和75 mmol·L⁻¹的NaCl处理较对照分别降低1.72%、

9.48%和38.79%, 且50和75 mmol·L⁻¹的NaCl处理与对照差异达到显著水平。相同NaCl胁迫浓度下, 随着CaCl₂处理浓度的增加, 马铃薯脱毒苗叶片NR活性呈先升高后降低的变化, 均在10 mmol·L⁻¹时达到最高, 与对照间均达到显著差异水平。

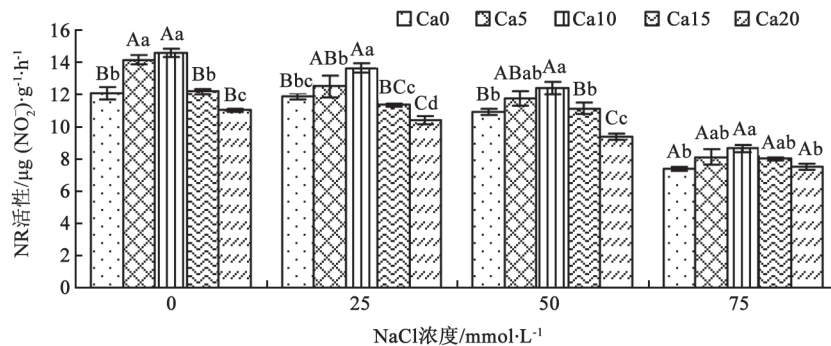


图5 钙对NaCl胁迫下马铃薯叶片NR活性的影响

Fig.5 The effect of calcium on NR activity of potato leaf under NaCl stress

6 钙对NaCl胁迫下马铃薯脱毒苗谷氨酰胺合成酶活性的影响

从图6可以看出, 各NaCl胁迫浓度下, 马铃薯脱毒苗叶片GS活性受到强烈抑制, 均极显著 ($P < 0.01$) 低于对照。在0、25和50 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫浓度下, 随CaCl₂添加浓度的增大叶片GS活性呈先增强后下降的变化, 10 mmol·L⁻¹ CaCl₂浓度下, GS活性最强, 极显著 ($P < 0.01$) 高于对照和5、15和

20 mmol·L⁻¹的CaCl₂处理; 75 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫浓度下, 添加15 mmol·L⁻¹ CaCl₂处理马铃薯脱毒苗叶片GS活性最高, 极显著 ($P < 0.01$) 高于对照和其他浓度的CaCl₂处理。

讨 论

氮是植物的重要营养物质, 硝态氮(NO₃⁻-N)是植物吸收和利用无机N素的主要形态之一。叶片

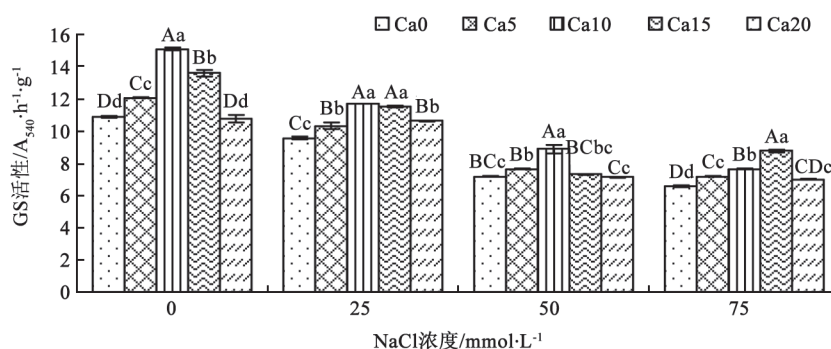


图6 钙对NaCl胁迫下马铃薯叶片GS活性的影响

Fig.6 The effect of calcium on GS activity of potato leaf under NaCl stress

是植物体内硝态氮同化的主要器官(Foyer和Noctor 2002)。有研究表明,盐胁迫会降低叶片中硝态氮含量(Parida等2004;孙菲菲等2012),但龚明等(1990)的研究指出在NaCl胁迫下,抗盐性强的洋麦草‘鉴4’对NO₃⁻-N吸收量增加。本研究结果表明,随着NaCl胁迫浓度的增加,叶片中NO₃⁻-N含量先升高后降低;25和50 mmol·L⁻¹浓度的NaCl胁迫可促进NO₃⁻-N的吸收。这与龚明等(1990)的研究结果相同。添加10 mmol·L⁻¹ CaCl₂能有效降低马铃薯脱毒苗叶片NO₃⁻-N含量,增强NaCl胁迫下马铃薯脱毒苗对NO₃⁻-N的利用。

植物体内过多的氨态氮会对植株造成毒害,抑制植物的正常生长,樊怀福等(2006)研究表明NaCl胁迫下,黄瓜幼苗叶片氨态氮含量升高。本研究结果与其相似,随着NaCl胁迫浓度的增加,马铃薯脱毒苗叶片氨态氮含量持续升高,添加钙能降低NaCl胁迫下叶片氨态氮含量,减轻氨毒害。

尹尚军等(2003)用0~200 mmol·L⁻¹的碱性盐Na₂CO₃对星星草进行胁迫处理,实验结果表明:随着Na₂CO₃胁迫浓度的增大,星星草体内总氮含量明显下降。王志强等(2009)研究指出, Ca²⁺明显促进了150 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫下小麦幼苗氮素积累量。本研究也得出了相似的结果,马铃薯脱毒苗叶片全氮含量随NaCl胁迫浓度的加大而降低,添加适量钙对NaCl胁迫下叶片全氮含量的降低具有缓解作用。

郑春芳等(2010)研究表明,盐胁迫下小麦幼苗可溶性蛋白含量降低,严蓓等(2012)研究指出, Ca²⁺通过参与胁迫信号传导过程和蛋白质的合成,对NaCl胁迫下黄瓜幼苗可溶性蛋白含量的降低具有

重要缓解作用。本研究也表明, NaCl胁迫下马铃薯脱毒苗叶片可溶性蛋白含量降低,但添加10 mmol·L⁻¹ CaCl₂后马铃薯脱毒苗叶片中可溶性蛋白含量升高,表明钙对NaCl胁迫下马铃薯脱毒苗叶片可溶性蛋白含量的降低具有缓解作用,从而减轻了盐的伤害作用。

硝酸还原酶具有催化NO₃⁻到NO₂⁻的作用,这种酶对盐胁迫很敏感。盐胁迫下植物叶片内硝酸还原酶活性呈不同程度的降低,引起其反应底物NO₃⁻-N的积累及反应产物NO₂⁻-N的下降,使一系列含氮化合物代谢紊乱,叶片总氮含量下降(杨少辉等2006)。本研究对叶片中NR活性的测定结果表明, NaCl胁迫下马铃薯脱毒苗叶片NR活性降低,添加适量钙使NR活性增强,说明钙对NaCl胁迫下NR活性的降低具有缓解效应,从而促进马铃薯脱毒苗对硝态氮的利用,增强NaCl胁迫下马铃薯脱毒苗对氮素的同化作用。但是,20 mmol·L⁻¹浓度的钙会抑制NR活性,降低氮素的同化作用。

谷氨酰胺合成酶(GS)是植物氮代谢的关键酶,它能催化谷氨酸与氨缩合形成谷氨酰胺(Glu),参与植物含氮化合物的新陈代谢。林燕等(2010)研究表明, NaHCO₃胁迫显著抑制了黄瓜幼苗叶片GS活性,本研究也得出了相似的结果, NaCl胁迫降低了马铃薯脱毒苗叶片GS活性,从而降低了对氨的同化作用,使马铃薯脱毒苗叶片中氨态氮含量升高。而植物体内积累的氨过多,会对植物体造成伤害(郑世英和陈吉美2000)。NaCl胁迫下添加钙后马铃薯脱毒苗叶片GS活性增强,说明钙缓解了NaCl对GS活性的抑制,增强了盐胁迫下马铃薯脱毒苗对氨的同化作用。且以浓度为10 mmol·L⁻¹

CaCl₂作用最强。

综上,在0、25、50 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫下添加10 mmol·L⁻¹ CaCl₂,在75 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫下添加15 mmol·L⁻¹ CaCl₂,能有效改善马铃薯脱毒苗氮素营养,增强植株对氮素的同化作用,降低盐胁迫对植株的伤害。

参考文献

- 陈因(1999). 硝态氮与氨态氮的测定. 现代植物生理学试验指南, 北京: 科学出版社, 138~140
- 程玉静, 郭世荣, 孙锦, 刘书仁, 刘超杰, 田婧(2010). 外源硝酸钙对盐胁迫下黄瓜幼苗氮化合物含量和硝酸还原酶活性的影响. 西北农业学报, 19 (4): 188~191, 206
- 丁能飞, 傅庆林, 刘琛(2010). 外源氯化钙对盐胁迫下西兰花抗氧化酶系统及离子吸收的影响. 中国农学通报, 26 (6): 133~137
- 樊怀福, 郭世荣, 杜长霞, 焦彦生, 栗娜娜, 段九菊(2006). 外源NO对NaCl胁迫下黄瓜幼苗氮化合物和硝酸还原酶活性的影响. 西北植物学报, 26 (10): 2063~2068
- 龚明, 赵方杰, 吴颂如, 汪良驹, 刘友亮(1990). NaCl胁迫对大麦硝酸盐吸收和有关的酶活的影响. 植物生理学通讯, (2): 13~16
- 孔祥生, 易现峰(2008). 植物生理学实验技术. 北京: 中国农业出版社, 158~162
- 林燕, 洪艳艳, 史庆华, 王秀峰, 魏珉, 杨凤娟(2010). SNP对NaHCO₃胁迫下黄瓜幼苗生长及氮代谢酶活性的影响. 植物营养与肥料学报, 16 (5): 1294~1298
- 刘国花(2006). 植物抗盐机理研究进展. 安徽农业科学, 34 (23): 6111~6112
- 逢焕成, 杨劲松, 谢晓红(2005). 氯化钠胁迫下施氮对冬小麦生长发育及体内氯、钠离子积累的影响. 植物营养与肥料学报, 11 (5): 654~658
- 孙菲菲, 王东升, 陈欢, 孙雪花, 赵俊杰(2012). NaCl胁迫对白菜叶片氮代谢的影响. 江苏农业科学, 40 (4): 160~162
- 王志强, 丁立, 徐晋豫, 梁威威, 林同保(2008). 蔗糖预处理对盐胁迫小麦幼苗氮同化的影响. 河南农业大学学报, 42 (3): 268~272
- 王志强, 王春丽, 王同朝, 林同保(2009). 钙离子对盐胁迫小麦幼苗氮代谢的影响. 生态学报, 29 (8): 4339~4345
- 严蓓, 孙锦, 郭世荣, 阳燕娟, 孙洪助(2012). 钙对盐胁迫下黄瓜幼苗生长及可溶性蛋白质表达的影响. 江苏农业学报, 28 (4): 841~845
- 杨少辉, 季静, 王罡, 宋英今(2006). 盐胁迫对植物影响的研究进展. 分子植物育种, 4 (3): 139~142
- 尹尚军, 石德成, 颜宏(2003). 碱胁迫下星星草的主要胁迫反应. 草业科学, 12 (4): 51~57
- 赵自国, 陆静梅(2002). 植物耐盐性研究及发展. 长春师范学院学报, 21 (1): 51~53
- 郑春芳, 姜东, 戴廷波, 荆奇, 曹卫星(2010). 外源一氧化氮供体硝普钠浸种对盐胁迫下小麦幼苗碳氮代谢及抗氧化系统的影响. 生态学报, 30 (5): 1174~1183
- 郑世英, 陈吉美(2000). 植物的抗盐生理. 德州高专学报, 41 (6): 39~40
- 周俊国, 扈惠灵(2010). NaCl胁迫下不同砧木对嫁接黄瓜叶片氮素代谢的影响. 植物营养与肥料学报, 16 (5): 1217~1223
- 朱晓军(2004). 钙对盐胁迫下水稻幼苗盐害缓解的效应及机理研究[学位论文]. 南京: 南京农业大学
- Foyer CH, Noctor G (2002). Photosynthetic nitrogen assimilation: inter-pathway control and signaling. In: Foyer CH, Noctor G (eds). Photosynthetic Nitrogen Assimilation and Associated Carbon and Respiratory Metabolism. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1~22
- Kudla J, Batistic O, Hashimoto K (2010). Calcium signals: the lead currency of plant information processing. Plant Cell, 22: 541~563
- Lauchli A (1990). Calcium, salinity and the plasma membrane. In: Calcium in Plant Growth and Development, Leonard RT, Hepler PK (eds). The American Society of Plant Physiologists Symposium Series, 4: 26~35
- Parida AK, Das AB, Mohanty P (2004). Defense potentials to NaCl in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: differential changes of isoforms of some anti oxidative enzymes. J Plant Physiol, 161: 531~542
- Tachibana S, Konishi N (1991). Diurnal variation of *in vivo* and *in vitro* nitrate reductase activity in cucumber plants. Japan Soc Hort Sci, 60: 593~599