

钙对高盐胁迫下缘管浒苔和孔石莼生理生化过程的影响

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL EFFECT OF CALCIUM ON *Enteromorpha linza* AND *Ulva pertusa* PROCESS UNDER NaCl STRESS

吴以平 董树刚

(青岛海洋大学海洋生命学院 266003)

关键词 盐胁迫, Ca, 缓解作用, 缘管浒苔, 孔石莼

钙能缓解盐胁迫对植物的伤害,其效应因植物不同而异。近年来,国内外在这方面对高等植物的研究报道较多,章文华等 1993 年,龚明等 1994 年,钱骅、史跃林等 1995 年研究了小麦、大麦、玉米等粮食作物和黄瓜、无花果等瓜果遭受盐渗透胁迫后,钙离子在减轻其盐害方面的作用及机理。潮河带藻类在高盐度的海水环境下,潮汐变化过程中其生理生化过程受到影响。钙是否能减轻渗透胁迫对其的影响,尚未见有关这方面的报道。本文试图通过高钙对盐胁迫下两种底栖藻生理生化过程影响的研究,了解海藻与高等植物在钙素调节渗透胁迫方面的异同点,为海藻抗渗透胁迫机理的深入研究提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

缘管浒苔 (*Enteromorpha linza*) 和孔石莼 (*Ulva pertusa*), 低潮时采自青岛太平角海滨岩石间水湾中,在天然海水中暂养 1 周后用于实验。

实验用海水为取自青岛鲁迅公园海滨的天然海水,经脱脂棉过滤煮沸冷却后,以天然海水含盐量 3% 为 1 倍,添加 3%, 4.5%, 6%, 7.5% 的 NaCl, 配制成 2, 2.5, 3, 3.5 不同倍数的高盐海水,以天然海水为对照。

CaCl₂ 为分析纯,用蒸馏水配制成 2 000 mmol/L 母液。因天然海水中 Ca 含量为 10 mmol/L,所以本实验以 10 mmol/L 为钙对照,按加钙后总量表示钙浓度。

1.2 方 法

实验时挑选外观鲜绿,手感挺而伸展,生长良好,大小适宜的藻体吸干表面水分,称取 0.5 g 左右放入装有 100 ml 不同盐度及不同钙含量海水的烧杯中,在温度 18 °C ± 1,光强 80 μE m⁻² · s⁻¹,光暗周期 L: D=12 h: 12 h 的光照培养箱中培养。按实验设计每次从各个烧杯中取材,测定不同培养时间的各项指标。

提取方法。取一定重量的藻吸干水分,加 5% 乙酸和石英砂研磨,70~80 °C 水浴热提取 30 min,冷却后加 Ba(OH)₂ 除去混合物,定容并过滤,加少量 ZrSO₄ 除去过量的 Ba(OH)₂,4 000 r/min 离心 15 min,上清液即为提取液。按朱广廉等 1983 年的方法,用酸性茚三酮法测定脯氨酸含量(mg/g),按华东师大生物系的方法^[3]测定可溶性糖含量(mg/g),所用仪器为 722 型分光光度计。

因底栖藻的生长情况在短时期内很难准确测定,因此以其叶绿素 a 含量作为生长情况的测定指标,用分光光度法按华东师大生物系的方法^[3]测定藻叶绿素 a 的含量,所用仪器为 751 G 型分光光度计。

膜透性的测定。取一定重量不同处理的藻吸干水分,置于 25 ml 大试管中,加纯蒸馏水 25 ml,摇匀,平衡 10 min 后用 DDS-11 A 型电导率仪测定初始电导值 G,室温放置 1 h 后,测定第 2 次电导值 G,然后将试管放入沸水中煮沸 10 min,冷却后测定第 3 次电导值

收稿日期:2000-03-20;修回日期:2000-05-17

G,按以下公式计算电解质外渗率:

$$\text{电解质外渗率}(\%) = \frac{G_2 - G_1}{G_3 - G_1} \times 100\%$$

实验均设 2 个平行样,并重复 3 次。

2 结果

2.1 在 3.0 倍海水中钙对缘管浒苔的影响及恢复培养后各项指标的情况

用含 10, 20, 30, 40, 50 mmol/L 钙的 3.0 倍海水培养缘管浒苔,同时做天然海水对照,测定 3 d, 6 d 后藻体脯氨酸,可溶性糖和叶绿素 a 的含量,然后将藻转移至天然海水中恢复培养 3 d 后,测定上述 3 项指标,结果如图 1~3。

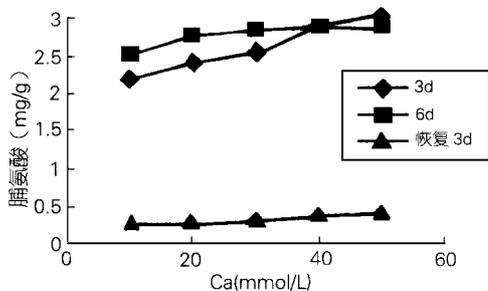


图 1 Ca 对 3.0 倍海水胁迫下缘管浒苔脯氨酸含量的影响

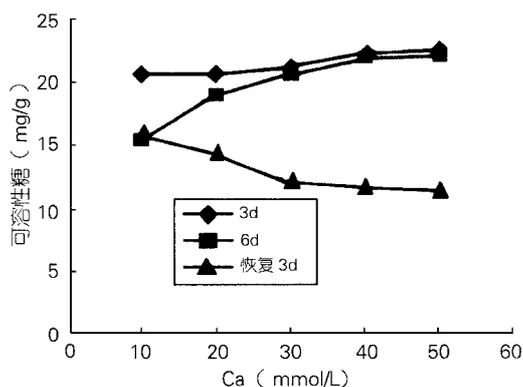


图 2 Ca 对 3.0 倍海水胁迫下缘管浒苔可溶性糖含量的影响

从结果可以看出,在 3.0 倍海水胁迫下,不同浓度的 Ca 对缘管浒苔所受伤害的缓解程度略有不同,

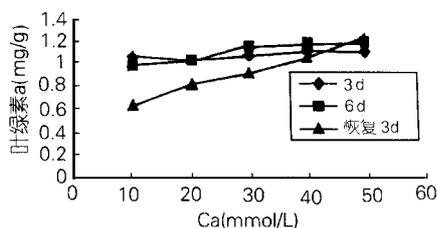


图 3 Ca 对 3.0 倍海水胁迫下缘管浒苔叶绿素 a 含量的影响

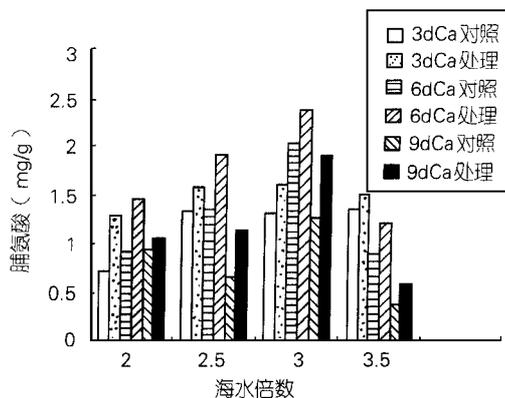


图 4 Ca 对 3.0 倍海水胁迫下孔石莼脯氨酸含量的影响

基本规律是:从 10~50 mmol/L,随 Ca 浓度增加,藻体脯氨酸和可溶性糖含量增高,3 d 时,脯氨酸由对照(0.136 mg/g)的 16.31 倍增至 22.73 倍,可溶性糖由对照(11.64 mg/g)的 1.77 倍增至 1.90 倍;而叶绿素 a 含量也随 Ca 浓度增高而增加,从对照(1.375 mg/g)的 76.9% 增至 81.0% ($P < 0.01$),6 d 时也是同样规律 ($P < 0.01$)。恢复培养后,脯氨酸和可溶性糖含量都迅速下降 ($P < 0.01$) 至接近对照水平,但叶绿素 a 含量却继续减少 ($P < 0.01$),只有 50 mmol/L Ca 浓度维持 6 d 时含量,没有继续减少。

2.2 在不同盐度海水中钙对孔石莼的影响

分别用 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 倍不同盐度的海水培养孔石莼,每种盐度都做钙处理(50 mmol/L)和钙对照(10 mmol/L)两种,同时做天然海水对照,分别测定 3 d, 6 d, 9 d 后脯氨酸,可溶性糖和叶绿素 a 含量,结果如图 4~6。

结果表明,在天然海水中培养的孔石莼脯氨酸含量为 0.200 mg/g 左右,可溶性糖含量为 15.62 mg/g 左右。在 2.0~3.0 倍不同盐度胁迫下培养 6 d,脯氨

酸含量比天然海水对照有较大增加,并有随盐度增加,随时间延长而增加的规律($P < 0.01$); Ca 处理则

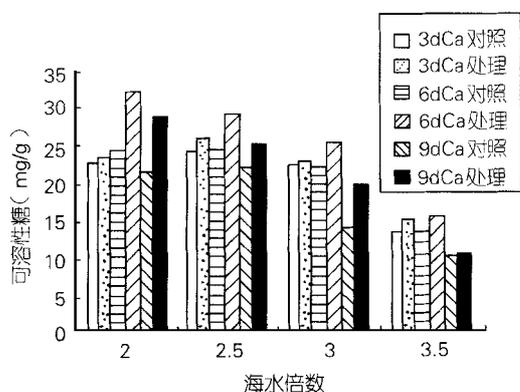


图5 Ca对3.0倍海水胁迫下孔石莼可溶性糖含量的影响

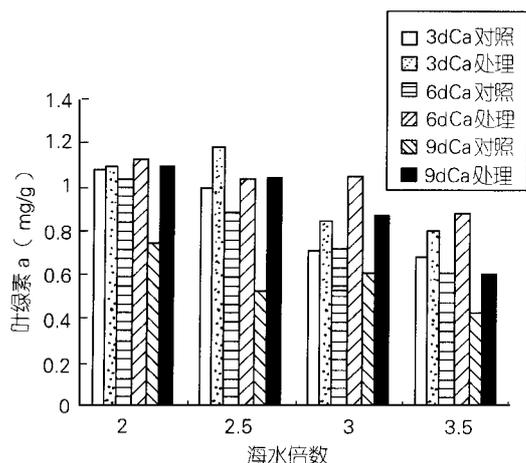


图6 Ca对3.0倍海水胁迫下孔石莼叶绿素a含量的影响

比Ca对照积累得更多些,3~6d均有此规律,3d时为Ca对照的1.76倍($P < 0.01$),6d为Ca对照的1.60倍($P < 0.05$)。可溶性糖含量也比天然海水对照有较大增加($P < 0.01$),除2.0倍和3.0倍3d外,Ca处理均又比Ca对照积累得更多些($P < 0.01$);9d时脯氨酸和可溶性糖含量均随时间延长而减少,但绝大部分仍表现为高于天然海水对照($P < 0.01$),并且Ca处理高于Ca对照(脯氨酸 $P < 0.05$,可溶性糖 $P < 0.01$)。3.5倍盐度处理,则表现为3d时脯氨酸比天然海水对照增量最多,随时间延长而减少(P

< 0.01),可溶性糖含量从3d就比天然海水对照减少($P < 0.01$),至9d时仅为对照的64%,但Ca处理则3d和6d高于Ca对照($P < 0.05$)。在天然海水中培养的孔石莼叶绿素a含量为1.14 mg/g左右。在2.0倍盐度下培养6d,Ca处理和Ca对照均与天然海水对照无显著差异,9d时Ca对照减少至天然海水对照的68%,Ca处理则与天然海水对照无明显差异;2.5,3.5倍盐度比天然海水对照明显减少($P < 0.05$),而2.5倍盐度Ca处理则比Ca对照有明显增加($P < 0.05$),与天然海水对照无显著差异;3.0倍和3.5倍盐度Ca处理比Ca对照减少量要少些($P < 0.05$),3.0倍6d时曾恢复到接近天然海水对照水平,3.5倍未恢复到天然海水水平。

将孔石莼培养在1.5,2.0,2.5,3.0倍海水中,每种盐度都做Ca对照和Ca处理两种,同时做天然海水对照,3d后测其电解质外渗率,结果见图7。在不同盐度下,孔石莼的膜透性随盐度增高而增大,Ca处理能使膜透性的这种增加有所缓解。

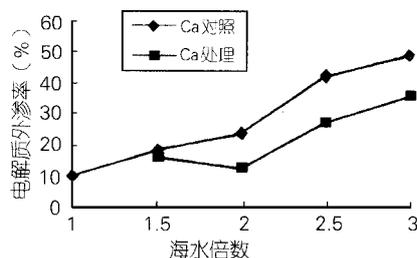


图7 Ca对不同盐度海水胁迫下孔石莼电解质外渗率的影响

3 讨论

关于钙能减轻植物盐害方面的作用和机理,前人已做过很多研究。报道指出,CaCl₂可通过抑制膜透性的增加,维持细胞膜结构及功能的完整性,增加ATP酶活性,提高脯氨酸积累^[2]等多种途径,减轻盐胁迫对高等植物生理生化过程的伤害。作者的研究结果表明,钙对底栖海藻遭受高盐胁迫时,同样有缓解作用。其中脯氨酸积累的提高和膜透性的降低较为明显,可溶性糖的积累虽不明显,但也有提高,这一点与卢元芳所做玉米幼苗的结果不大一致^[4]。从叶绿素a含量来衡量,2.0倍盐度胁迫6d对孔石莼伤害甚微,9d时有较大的伤害作用,但加钙后可得到缓解;在



2.5 ~ 3.0 倍海水中,钙对盐胁迫的缓解作用较大,尤其是 2.5 倍海水胁迫时,Ca 处理能使叶绿素 a 含量基本与天然海水对照相等,说明脯氨酸和可溶性糖的积累,膜透性的降低可帮助藻提高抗盐胁迫的能力。

在 3.5 倍高盐胁迫下,可溶性糖和叶绿素 a 含量变化相同,也出现下降,而不成为渗透调节物质。这可能是由于胁迫增加了叶绿体膜的透性,使叶绿体结构遭到破坏,细胞中叶绿素与叶绿体蛋白间结合变得松弛,叶绿素 a 含量下降,光合作用能力下降,从而使可溶性糖含量下降。Ca 处理对叶绿体膜有保护效应,使得叶绿素 a 和可溶性糖含量有所增加。这种保护效应与钱骅等 1995 年所做的钙对大麦液泡膜功能的保护效应可能是相似的。在 3.5 倍海水中,孔石莼的脯氨酸含量也有积累,但培养时间稍长,藻体即出现变形,滑腻,Ca 处理略有缓解,但藻也开始解体,叶绿素 a 的含量仅为天然海水对照的 56%。这说明植物以脯氨酸的积累来增加对渗透胁迫的抗性有一定限度,钙

对胁迫的缓解作用也有一定限度。在缘管浒苔的恢复实验中,作者注意到脯氨酸和可溶性糖含量迅速下降,恢复到接近天然海水对照水平,而叶绿素 a 含量除 50 mmol/L Ca 处理外,其余各 Ca 浓度均无恢复,继续下降,说明 50 mmol/L Ca 缓解高盐胁迫的效果较好。由于底栖海藻的生长环境为海水,所以加钙处理的浓度要比高等植物高些,作者的实验表明,加 40 mmol/L Ca 处理效果最好,因没有做更多的钙浓度实验,还不能确定其为最适浓度。

参考文献

- 1 檀建新、董永华等.植物生理学通讯,1998,34(2):94~96
- 2 汪良驹、刘友良等.植物生理学报,1999,25(1):38~43
- 3 华东师范大学生物系.植物生理学实验指导.上海:人民教育出版社,1981.88~90,145~147
- 4 卢元芳.植物生理学通讯,1999,35(4)293~294