

# 钙离子胁迫对越南槐种子萌发的影响

马洪娜 王海燕 黄丽容 檀龙颜\*

(贵州中医药大学, 贵州贵阳 550025)

**摘要** 以越南槐种子为试验材料, 研究钙离子胁迫对种子萌发过程的影响。结果表明: 萌发种子的脯氨酸含量在 100 mmol/L CaCl<sub>2</sub> 处理下显著升高, 而甜菜碱含量在 50 mmol/L CaCl<sub>2</sub> 处理下显著升高; 电导率随着 CaCl<sub>2</sub> 浓度的增加呈现先升高后下降的趋势, 且 100 mmol/L CaCl<sub>2</sub> 处理下的电导率高于蒸馏水对照; 超氧阴离子和过氧化氢含量随着 CaCl<sub>2</sub> 浓度的增加而增加; 抗坏血酸过氧化物酶活性在 100 mmol/L CaCl<sub>2</sub> 处理下显著升高, 同时单脱氢抗坏血酸还原酶、脱氢抗坏血酸还原酶和谷胱甘肽还原酶活性随着 CaCl<sub>2</sub> 浓度的增加而增强。可见, CaCl<sub>2</sub> 浓度在 100 mmol/L 以下时主要产生渗透胁迫作用。

**关键词** 越南槐; 种子萌发; 钙离子胁迫; 渗透胁迫

**中图分类号** Q945.34 **文献标识码** A

**文章编号** 1007-5739(2022)10-0100-04

**DOI**: 10.3969/j.issn.1007-5739.2022.10.028

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Effects of Calcium Ions Stress on Seed Germination of *Sophora tonkinensis*

MA Hongna WANG Haiyan HUANG Lirong TAN Longyan\*

(Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou 550025)

**Abstract** Taking *Sophora tonkinensis* seeds as experimental materials, this paper studied the effects of calcium ions stress on seed germination. The results showed that the proline content of germinated seeds increased significantly under the treatment of 100 mmol/L CaCl<sub>2</sub>, while the betaine content of germinated seeds increased significantly under the treatment of 50 mmol/L CaCl<sub>2</sub>. The electrical conductivity increased at first and then decreased with the increase of CaCl<sub>2</sub> concentration, and the electrical conductivity under the treatment of 100 mmol/L CaCl<sub>2</sub> was higher than that of the distilled water control. The contents of superoxide anion and hydrogen peroxide increased with the increase of CaCl<sub>2</sub> concentration. The activity of ascorbate peroxidase increased significantly under the treatment of 100 mmol/L CaCl<sub>2</sub>, and the activities of monodehydroascorbate reductase, dehydroascorbate reductase and glutathione reductase increased with the increase of CaCl<sub>2</sub> concentration. It could be seen that the osmotic stress was mainly induced by CaCl<sub>2</sub> when its concentration below 100 mmol/L.

**Keywords** *Sophora tonkinensis*; seed germination; calcium ions stress; osmotic stress

在喀斯特地区土壤中, 高浓度钙离子能够显著抑制植物生长, 影响农作物产量以及植物种类和群落的分布<sup>[1]</sup>。檀龙颜等<sup>[2]</sup>观察了钙离子胁迫对金荞麦(*Fagopyrum dibotrys*)种子萌发的影响, 结果显示, 在低浓度钙离子胁迫时, 萌发种子主要受到渗透胁迫,

细胞通过抗氧化酶清除活性氧自由基, 而在高浓度钙离子胁迫时, 萌发种子可能受到离子毒害作用。吕朝燕等<sup>[3]</sup>观察了钙离子胁迫对白车轴草(*Trifolium repens*)、紫云英(*Astragalus sinicus*)、紫花苜蓿(*Medicago sativa*)种子的影响, 发现钙胁迫下紫花苜蓿种子恢复萌发率较好、对高浓度钙离子环境的适应能力要好于白车轴草和紫云英, 是喀斯特地区较为适宜的栽培牧草品种。冯晓英等<sup>[4]</sup>分析了钙离子胁迫下伞花木(*Eurycorymbus cavaleriei*)和华山松(*Pinus armandii*)幼苗中的脯氨酸和可溶性蛋白含量, 结果显示伞

**基金项目** 贵州省基础研究计划项目(黔科合基础[2019]1034号)。

**作者简介** 马洪娜(1988—), 女, 黑龙江依安人, 硕士, 讲师。研究方向: 药用植物栽培学。

\* 通信作者

**收稿日期** 2021-09-26

花木比华山松更能适应贵州高钙的喀斯特环境。此外,彭博等<sup>[5]</sup>观察了不同钙浓度梯度下狭叶香蒲(*Typha angustifolia*)的生长状况及生理特性,发现狭叶香蒲对高浓度钙胁迫有较强的适应能力,可作为喀斯特湖滨湿地植被恢复及生态重建的理想材料。檀龙颜等<sup>[6]</sup>研究发现,钙离子胁迫对金荞麦幼叶的影响主要表现为渗透胁迫,在一定程度上解释了金荞麦在贵州成为广布种的原因。檀龙颜等<sup>[1]</sup>对植物响应钙离子胁迫的机制进行了研究,认为植物通过富集钙离子方式、通过表皮结构将钙离子排出、通过合成渗透保护物质应对钙离子导致的渗透胁迫、通过抗氧化酶系统消除钙离子导致的氧化胁迫、通过固醇甲基转移酶调节钙离子胁迫下膜的完整性、通过增强光合特性适应钙离子胁迫等机制适应高浓度钙离子环境。但是,以高浓度钙离子为非生物胁迫因素的研究较少,而系统性钙离子胁迫研究将为解析喀斯特地区植物的适生机制、品种选育和石漠化治理提供有价值的科学依据。

喜钙植物越南槐(*Sophora tonkinensis*)为豆科植物,其干燥根和根茎入药称为山豆根<sup>[7-8]</sup>。山豆根为临床常用药,属清热解毒药<sup>[9]</sup>。同时,山豆根也是一种重要工业原料。越南槐的繁殖方式主要是种子繁殖<sup>[9]</sup>。本课题组先期对钙胁迫下越南槐萌发种子的萌发率、含水量、总可溶性糖含量、丙二醛含量、超氧化物歧化酶活性、过氧化氢酶活性和过氧化物酶活性等指标进行了研究,显示钙胁迫对越南槐种子可能产生渗透胁迫<sup>[10]</sup>。本文在先期研究结果的基础上,研究了其他渗透保护物质(脯氨酸和甜菜碱)含量、电导率、不同活性氧自由基(过氧化氢和超氧阴离子)的含量以及抗氧化酶系统其他主要酶活性,以期验证和解析越南槐适应贵州喀斯特生境的生理机制提供基础资料,为贵州越南槐规模化种植提供科学指导,为植物响应钙离子胁迫的生理机制提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为越南槐种子,于2018年9月采自安顺市紫云县猫营镇山豆根种繁基地,室内阴干后,于4℃保存,备用。供试试剂为CaCl<sub>2</sub>。

### 1.2 试验方法

试验共设3个处理,即以蒸馏水为对照(CK),50 mmol/L CaCl<sub>2</sub>溶液(A)、100 mmol/L CaCl<sub>2</sub>溶液(B)作为钙胁迫处理条件。供试种子采用2%次氯酸钠消毒20 min。每个处理选用50粒大小均匀、饱满的种子,将这些种子置于直径15 cm的培养皿中,基质为2层定性滤纸(蒸馏水充分润湿,无明水)。分别用蒸馏水及50、100 mmol/L CaCl<sub>2</sub>溶液润湿基质,每天上午9:00定时补充溶液。3次重复。将培养皿置于人工智能气候箱中培养,要求黑暗条件、温度25℃。发芽标准为胚根突破种皮1 mm以上,发芽结束标准为连续5 d无新发芽种子<sup>[11]</sup>。本试验观察20 d,试验过程中及时补充处理液。

测定指标包含脯氨酸含量、甜菜碱含量、电导率、超氧阴离子含量、过氧化氢含量及抗坏血酸过氧化物酶、单脱氢抗坏血酸还原酶、脱氢抗坏血酸还原酶和谷胱甘肽还原酶活性,测定方法参考文献<sup>[12]</sup>。

### 1.3 数据统计及分析

采用Excel 2010和SPSS 17.0软件对数据进行统计分析。

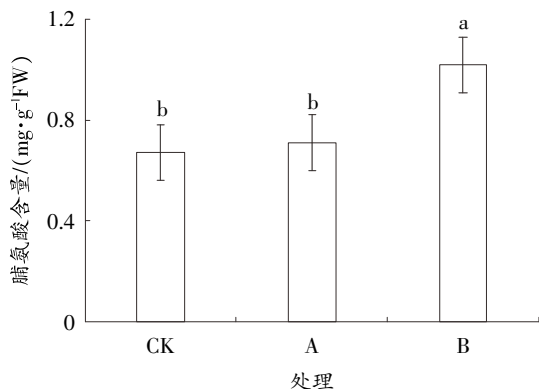
## 2 结果与分析

### 2.1 脯氨酸和甜菜碱含量变化

从图1可以看出,处理A越南槐萌发种子中脯氨酸含量与CK之间无明显差异,但是处理B脯氨酸含量与CK相比显著升高。从图2可以看出,越南槐萌发种子中甜菜碱含量变化与脯氨酸含量变化不同,处理A甜菜碱含量与CK相比显著增加,但处理B甜菜碱含量与CK无明显差异。本课题组先前研究发现,总可溶性糖含量随着钙离子浓度的增加逐渐增加<sup>[10]</sup>。这表明处理A渗透保护物质以总可溶性糖和甜菜碱为主,而处理B渗透保护物质以总可溶性糖和脯氨酸为主。

### 2.2 电导率变化

从图3可以看出,越南槐萌发种子的电导率随着钙离子浓度的升高表现出先升高后下降的趋势,但处理B越南槐萌发种子的电导率与CK相比仍然较高。本课题组先前研究发现,丙二醛含量随着钙离子浓度的升高呈逐渐增加趋势<sup>[10]</sup>。以上结果表明,在



注:不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。下同。

图1 不同处理对越南槐萌发种子脯氨酸含量的影响

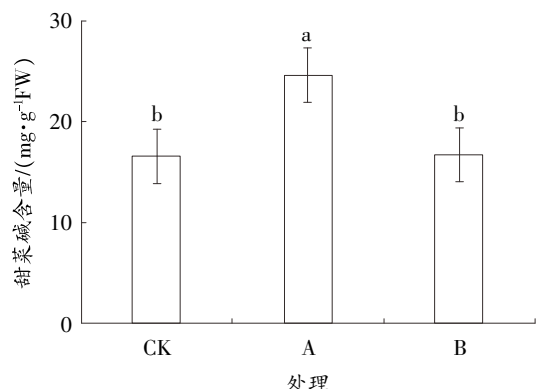


图2 不同处理对越南槐萌发种子甜菜碱含量的影响

高浓度钙离子胁迫下,萌发种子的膜发生了氧化性损伤,且发生了电解质泄漏。

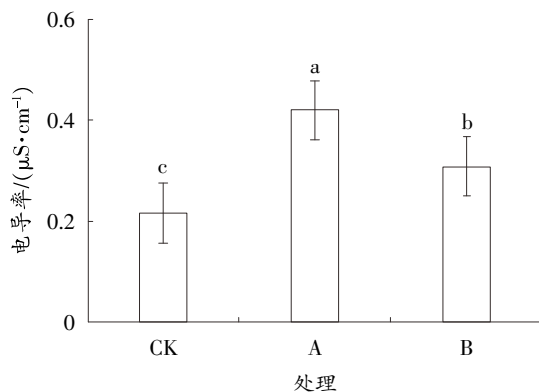


图3 不同处理对越南槐萌发种子电导率变化的影响

### 2.3 过氧化氢和超氧阴离子含量变化

从图4、5可以看出,越南槐萌发种子中过氧化氢、超氧阴离子的含量随着CaCl<sub>2</sub>浓度的增加逐渐升高。以上结果表明,在高浓度钙离子胁迫下,细胞内产生了活性氧自由基,引起了细胞氧化性损伤。

### 2.4 不同处理4种酶活性变化

本课题组前期研究表明,过氧化氢酶活性、超氧化物歧化酶活性和过氧化物酶的活性随着钙离子浓

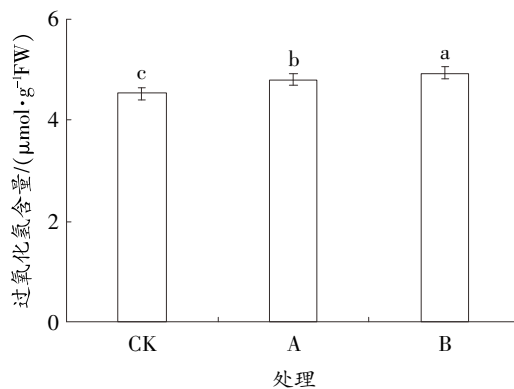


图4 不同处理对越南槐萌发种子H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量的影响

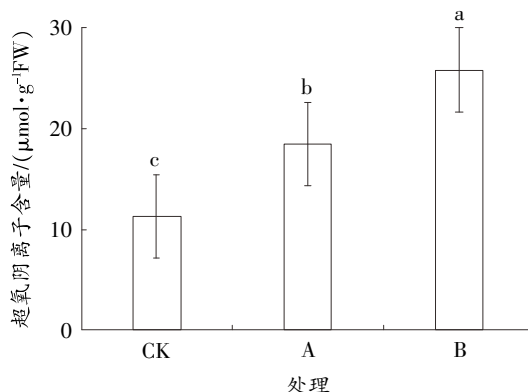


图5 不同处理对越南槐萌发种子O<sub>2</sub><sup>-</sup>含量的影响

度的增加呈逐渐增强趋势<sup>[10]</sup>。从图6可以看出,处理A抗坏血酸过氧化物酶活性与CK相比无明显差异,但处理B抗坏血酸过氧化物酶活性与CK相比显著增强。从图7、8、9可以看出,单脱氢抗坏血酸还原酶、脱氢抗坏血酸还原酶和谷胱甘肽还原酶的活性均随着CaCl<sub>2</sub>浓度的增加而增加。以上结果显示,抗氧化酶系统启动用于活性氧自由基的清除。

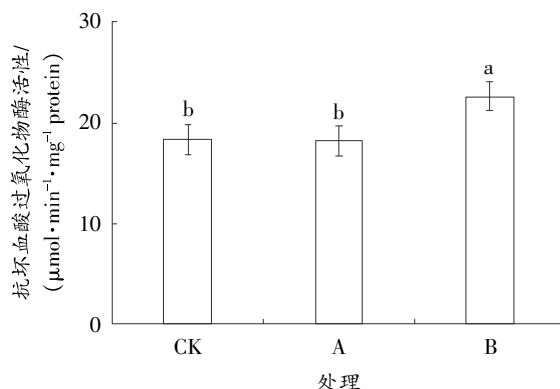


图6 不同处理对越南槐萌发种子抗坏血酸过氧化物酶活性变化的影响

## 3 结论与讨论

### 3.1 结论

本文研究发现,在CaCl<sub>2</sub>浓度不超过100 mmol/L

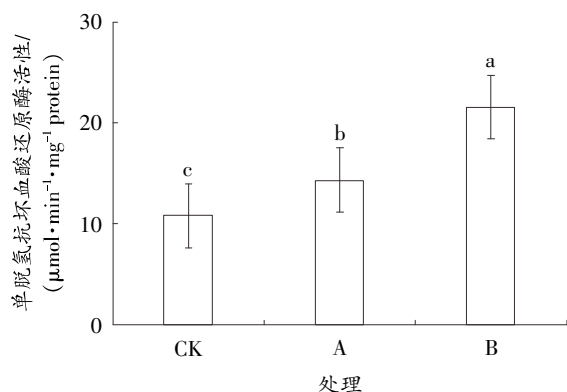


图7 不同处理对越南槐萌发种子单脱氢抗坏血酸还原酶活性变化的影响

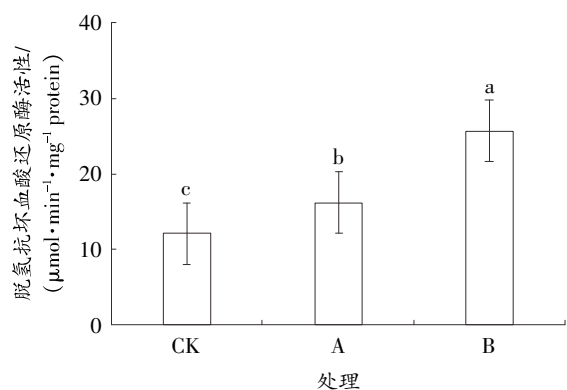


图8 不同处理对越南槐萌发种子脱氢抗坏血酸还原酶活性变化的影响

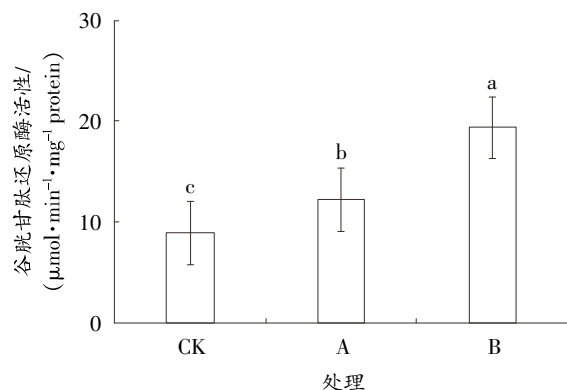


图9 不同处理对越南槐萌发种子谷胱甘肽还原酶活性变化的影响

时,钙离子胁迫对越南槐种子的胁迫主要为渗透胁迫,种子细胞通过合成甜菜碱和脯氨酸等渗透保护物质维持细胞渗透平衡,渗透胁迫诱导产生的活性氧自由基主要通过抗氧化酶系统清除。

### 3.2 讨论

**3.2.1** 越南槐种子通过合成渗透保护物质维持渗透平衡。用不同浓度(0~240 mmol/L)的CaCl<sub>2</sub>溶液处理提灯藓(*Mnium cuspidatum*)、石地钱(*Reboulia hemisphaerica*)、青藓(*Brachythecium albicans*)3种苔藓植

物配子体发现,随着CaCl<sub>2</sub>浓度超过40 mmol/L,可溶性糖和脯氨酸含量急剧上升<sup>[13]</sup>。用含不同浓度CaCl<sub>2</sub>(0~200 mmol/L)的液体MS培养基培养假马齿苋(*Bacopa monnieri*)28 d后发现,与空白对照相比,在150、200 mmol/L CaCl<sub>2</sub>处理下,甜菜碱含量逐渐升高<sup>[4]</sup>。本课题组结果显示,越南槐萌发种子通过合成总可溶性糖、脯氨酸和甜菜碱维持细胞渗透平衡,且在50 mmol/L CaCl<sub>2</sub>处理下,渗透保护物质以总可溶性糖和甜菜碱为主,而在100 mmol/L CaCl<sub>2</sub>处理下,渗透保护物质以总可溶性糖和脯氨酸为主。渗透保护物质含量的提高能有效降低细胞水势、增强吸水功能,进而抵抗因钙离子浓度提高造成的渗透胁迫<sup>[1]</sup>。

**3.2.2** 越南槐种子通过抗氧化酶系统清除活性氧。在高浓度钙离子处理下,单性木兰、伞花木、青冈栎和华山松的过氧化物酶活性随钙离子浓度的增加而增加<sup>[15]</sup>。用含不同浓度CaCl<sub>2</sub>(0~200 mmol/L)的液体MS培养基培养假马齿苋苗28 d后发现,当CaCl<sub>2</sub>浓度大于100 mmol/L时,苗中丙二醛含量显著增加<sup>[14]</sup>;在0~100 mmol/L CaCl<sub>2</sub>处理下,随着CaCl<sub>2</sub>浓度的升高,超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性逐渐增加,且在100 mmol/L CaCl<sub>2</sub>处理下抗坏血酸过氧化物酶活性显著高于0、50 mmol/L CaCl<sub>2</sub>处理<sup>[14]</sup>。使用含CaCl<sub>2</sub>(0~200 mmol/L)的培养基培养印度人参苗,苗中过氧化氢酶、抗坏血酸过氧化物酶、谷胱甘肽还原酶活性均随CaCl<sub>2</sub>浓度的升高而升高<sup>[16]</sup>。在高浓度钙离子胁迫下,越南槐萌发种子中丙二醛含量增加,膜质遭到氧化<sup>[10]</sup>,电解质发生泄漏。而超氧阴离子和过氧化氢含量的增加,表明这2种活性氧自由基在膜质氧化过程中发挥了作用(图10)。抗氧化酶活性<sup>[10]</sup>检测发现,除抗坏血酸过氧化物酶活性在100 mmol/L钙离子浓度下增强外,超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶、单脱氢抗坏血酸还原酶、脱氢抗坏血酸还原酶和谷胱甘肽还原酶的活性均随着钙离子浓度的增强而增加(图10)。因此,抗氧化酶系统在活性氧自由基清除过程中发挥了重要作用。

### 4 参考文献

- [1] 檀龙颜,马洪娜.植物响应钙离子胁迫的研究进展[J].植 (下转第109页)

来越注重其景观效果在泰州市城市绿地中的引领作用。该公园设置了牡丹园、鸢尾园和月季园,并且在园内穿插种植耐阴地被植物,凸显了植物专类园的景观效果。然而,公园在注重乡土品种运用的同时,也要注重新品种选育,在香樟林、广玉兰林等乔木纯林下适栽栽植观花观果类地被植物,创新造景<sup>[4]</sup>。三是注重新品种的推广运用。在本文“2.3 新优耐阴品种”中优选出了 6 种适合在公园中推广栽植的耐阴地被植物,在今后公园建设中要遵循自然规律,以设计优先为原则,每年进行造景更新<sup>[5-6]</sup>,营造出更好更新的景观效果吸引游客。此外,新品种不仅可在天德湖公园运用,还可在泰州市其他公园推广运用,共同塑造美丽泰州。

#### 4 参考文献

[1] 潘颖峰,叶建荣,蒋楚楚,等.杭州市耐阴植物应用调查研究[J].安徽农业科学,2012,40(18):9775-9777.  
 [2] 翟咏,胡二红.3 种耐阴地被植物在太原市园林绿化中的应用[J].山西科技,2012,27(6):116-117.  
 [3] 李英男,杨秀珍,任利超,等.北京奥林匹克森林公园地被植物的应用[J].北京林业大学学报,2010,32(增刊 1):189-193.  
 [4] 彭丽文.城市森林生态游览区生态修复与景观设计研究:以遂宁东山森林生态区为例[J].城市住宅,2019,26(5):35-38.  
 [5] 高红娟,曾伟,雷江丽.广东地区公园绿地林下耐阴地被植物应用研究[J].广东农业科学,2020,47(3):50-58.  
 [6] 任全进,陈晓萱,于金平.耐阴地被植物及其在园林中的应用[J].中国野生植物资源,2012,31(6):62-64.

(上接第 103 页)

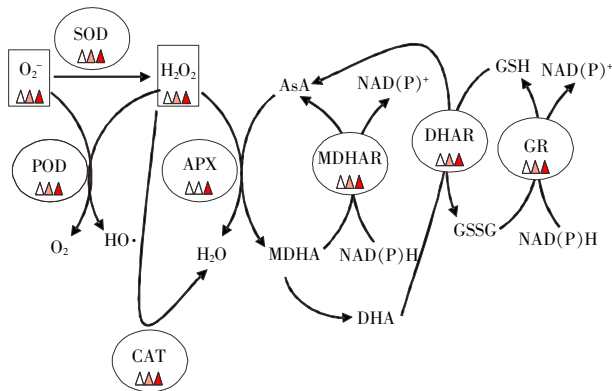


图 10 越南槐种子萌发过程中抗氧化酶系统对钙离子胁迫的响应

物生理学报,2017,53(7):1150-1158.  
 [2] 檀龙颜,王海燕,黄丽容,等.不同浓度钙胁迫对金荞麦种子萌发的影响[J].种子,2020,39(10):82-85.  
 [3] 吕朝燕,田维怡.钙离子胁迫对 3 种牧草种子萌发及幼苗生长的影响[J].种子,2019,38(4):56-61.  
 [4] 冯晓英,胡章平,乙引.Ca<sup>2+</sup>胁迫下伞花木和华山松脯氨酸及可溶性蛋白质含量的变化[J].贵州农业科学,2010,38(9):169-170.  
 [5] 彭博,徐鸣洲,王妍,等.钙胁迫对狭叶香蒲的生长及逆境生理指标的影响[J].西部林业科学,2020,49(4):163-170.  
 [6] 檀龙颜,何雨.钙离子胁迫对金荞麦幼叶的影响[J].现代农业科技,2020(18):53-55.  
 [7] 贵州植物志编辑委员会.贵州植物志:第七卷[M].成都:四川民族出版社,1989.

[8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部:2020 年版[S].北京:中国医药科技出版社,2020.  
 [9] 檀龙颜,马洪娜.越南槐繁殖与栽培技术的研究进展[J].种子,2017,36(8):52-56.  
 [10] 黄丽容,吴月君,吴依琳,等.不同浓度钙离子对越南槐种子萌发的影响[J].种子,2021,40(4):81-84.  
 [11] 孙长生,龙祥友,朱虹,等.不同温度对山豆根种子发芽的影响[J].种子,2014,33(5):82-85.  
 [12] 檀龙颜.油菜(*Brassica napus*)种子萌发响应 NaCl 胁迫的生理学及蛋白质组学研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2014.  
 [13] 项俊,赵芳,方元平,等.水分和钙胁迫对苔藓植物生理生化指标的影响[J].环境科学与技术,2010,33(增刊 2):70-74.  
 [14] AHIRE M L, LAXMI S, WALUNJ P R, et al. Effect of potassium chloride and calcium chloride induced stress on *in vitro* cultures of *Bacopa monnieri* (L.) Pennell and accumulation of medicinally important bacoside A[J]. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 2014, 23(4):366-378.  
 [15] 王传明,乙引.外源 Ca<sup>2+</sup>对喜钙植物、随遇植物和嫌钙植物 POD 活性和相对含水量的影响[J].湖北农业科学,2014,53(10):2347-2351.  
 [16] SABIR F, SANGWAN R S, KUMAR R, et al. Salt stress-induced responses in growth and metabolism in callus cultures and differentiating *in vitro* shoots of Indian ginseng (*Withania somnifera* Dunal) [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2012, 31(4):537-548.