

PEG 和 NaCl 对喜旱莲子草生长和生理适应的影响*

柳建平, 唐安军

(重庆师范大学 生命科学学院, 重庆 401331)

中图分类号: Q945.79

文献标志码: A

文章编号: 1672-6693(2013)01-0129-04

喜旱莲子草(*Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb.) 属苋科(Amaranthaceae) 莲子草属(*Alternanthera*) 的多年生宿根性草本植物, 水陆两栖, 俗称水花生、革命草、空心莲子草, 原产巴西、乌拉圭、阿根廷等南国家^[1]。喜旱莲子草适宜在暖温带-热带湿润气候条件下生长, 主要分布于上述气候区的各种淡水生态系统的水陆交界区域, 如池塘、沟渠和河口湿地等^[2]。根据生境的水分状态, 可将喜旱莲子草分为3种类型, 即漂浮型(Floating type)、挺水型(Emersed-rooted type)和陆生型(Terrestrial type)^[3]。20世纪30年代该物种被引入中国, 后逸为野生, 现在广泛生长于中国南方地区, 适应性广, 繁殖能力强(以无性繁殖为主)。由于它能够入侵多种生境并且生长迅速, 难以控制, 因而对入侵地的生物多样性、生态系统和农林经济构成极大威胁^[4]。

目前已有的关于喜旱莲子草入侵机制的研究报道主要涉及该物种的无性繁殖(有性繁殖的报道甚少)、不同生态型的解剖结构、对光照和低温响应、养分生理、生化防治等方面^[1,5], 而它的耐盐性和耐旱性的研究目前仍只有零星报道。Bolanos 和 Longgtreth 研究发现根际的盐浓度从 50 mmol · L⁻¹ 升高到 400 mmol · L⁻¹ 时, 喜旱莲子草的水势降低^[6], 表明喜旱莲子草可以通过渗透调节而忍耐根际的盐度升高, 但现在仍不清楚在盐胁迫下该植物其他的生理适应特点。植物常遭受的逆境之一是干旱, 其中主要是土壤干旱^[7]。PEG-8000 溶液的水势与自身浓度呈负相关^[8,9], 因此可以用 PEG 溶液处理喜旱莲子草, 以模拟土壤干旱对其生长影响。本文旨在探究入侵植物喜旱莲子草在水分和盐胁迫环境下的生理反应及其调控能力, 为防止该物种的综合治理等方面提供参。

1 材料和方法

1.1 植物培养

在 2010 年 10 月下旬于重庆市重庆师范大学三春湖畔自然生长的喜旱莲子草种群中选取生长一致的植株(4 节, 苗长约 12 cm), 扦插于装有干净珍珠岩的烧杯中, 每个烧杯中 5 株, 共计 60 株。在实验室内培养期间, 用自制的营养液喷灌。待植株生长 21 d 后进行 PEG 处理或 NaCl 处理。

1.2 PEG 溶液处理

根据 Michel 的方法^[8]配置 5 个水势, 即 0(对照)、-0.51、-1.5、-2.4 和 -4.0 MPa (20℃ 下用美国 WESCOR 公司生产 PSYPRO 水势仪测得)的 PEG-8000 溶液, 模拟不同程度的土壤干旱。在所有的 PEG 处理实验中, 在每个 2 L 容量的烧杯中加入不同浓度的 PEG 溶液, 对材料进行培养。培养箱为重庆市永生实验仪器厂生产的 SHH-250GSP 人工气候箱, 箱内温度设为 20℃, 光照时间为每天 12 h, 光照强度约为 61 μmol/(m² · s)。每天观察植株生长情况, 每 2 d 更换新的 PEG 溶液。每个处理 3 个重复, 每个重复 2 株, 处理时间为 12 d, 然后取样, 用于测定有关指标。

1.3 NaCl 溶液处理

NaCl 溶液浓度为 0(对照)、50、100、200 和 400 mmol · L⁻¹。将不同浓度的上述盐溶液加注到栽培了喜旱莲子草的 2 L 容量的烧杯中进行胁迫处理, 每个烧杯加注量均为 1 L。每个处理 3 个重复, 每个重复 2 株。喜旱莲子草生长 12 d 后, 然后取样, 用于测定有关指标。

1.4 指标测定和统计分析

将整株植物从培养烧杯中取出, 用自来水冲洗干净, 然后用吸水纸吸干表面水分, 立即称重, 即为植物的鲜重(单位: g)。叶片丙二醛(MDA)含量测定, 则参照 Heath 和 Packer^[10]的方法进行。植株内游离脯氨酸(Free proline)含量的测定参照 Bates 等人^[11]的方法, 以每克干重材料所含的游离脯氨酸毫克数表示。SOD 酶的提取与活性测定参照 Donahue 等人^[12]的方

* 收稿日期 2012-06-12 修回日期 2012-09-04 网络出版时间 2013-01-18 15:05

资助项目: 重庆市教委科学技术研究项目(No. KJ100610) 重庆师范大学博士启动基金项目(No. 09XLB016)

作者简介: 柳建平, 男, 高级实验师, 研究方向为植物生物化学, E-mail: liujianping54@126.com 通讯作者: 唐安军, E-mail: anjuntang@gmail.com

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20130118.1505.201301.129_025.html

法提取酶液,测定和计算活性。蛋白质含量的测定参照 Bradford^[13]的方法,用牛血清蛋白做标准蛋白。

所有数据结果均以“平均值±标准差”表示,用 SPSS 13.0 进行单因素方差分析并进行多重比较(Duncan法)差异显著性标准为 $p < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 植株鲜重与 PEG 和 NaCl 处理

在 PEG 或 NaCl 溶液处理下,喜旱莲子草的鲜重均低于对照。对照组植株的鲜重为 $(3.7 \pm 0.1) \text{ g}$,而

在 100 和 200 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaCl 溶液培养下,植株鲜重分别是 (3.31 ± 0.07) 和 $(2.94 \pm 0.09) \text{ g}$;类似地,在 -0.51 、 -4.0 MPa 下,植株鲜重分别是 (3.52 ± 0.08) 、 $(2.15 \pm 0.04) \text{ g}$,对照组与处理间的差异显著($p < 0.05$) (表 1)。由此可见,PEG 和 NaCl 溶液均抑制了植株的生长发育,且随着浓度增大其抑制作用强,即随着水分或盐分胁迫的增强,植株的鲜重逐渐减少。

表 1 PEG 溶液和 NaCl 溶液对喜旱莲子草植株鲜重的影响

	PEG-8000 溶液水势/MPa					NaCl 溶液浓度/ $(\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$				
	0	-0.51	-1.5	-2.4	4.0	0	50	100	200	400
植株鲜重/g	3.7 ± 0.1^a	3.52 ± 0.08^a	2.85 ± 0.07^b	2.67 ± 0.03^b	2.15 ± 0.04^c	3.7 ± 0.1^a	3.59 ± 0.05^a	3.31 ± 0.07^b	2.94 ± 0.09^c	1.91 ± 0.05^d

注:不同字母表示数据之间有显著差异($p < 0.05$)

2.2 叶片脯氨酸和 MDA 的含量变化

在 PEG 溶液处理即模拟干旱胁迫后,喜旱莲子草的叶片脯氨酸含量和 MDA 含量均明显增加,而且随着处理液水势的逐渐降低,胁迫效应愈加严重(图 1)。在水势为 0 MPa 时,植株叶片脯氨酸和 MDA 的含量分别为 0.11 和 0.2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,当水势降低到 -4 MPa 时,植株叶片脯氨酸和 MDA 的含量分别增加至 2.73 和 2.77 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。同样,随着处理液 NaCl 溶液浓度的增加,喜旱莲子草叶片内的脯氨酸和 MDA 的含量逐渐增加,即从 0.11 和 0.2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 分别增加至 3.3 和 5.2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (图 2)。

2.3 叶片 SOD 活性的变化

在 PEG 溶液处理中,当溶液水势从 0 MPa 降低至 -2.4 MPa 时,植株叶片的 SOD 活性先逐步增加;然后,水势进一步降低至 -4 MPa 时,SOD 的活性反而下降(图 3)。类似地,在 NaCl 溶液处理中,当 NaCl 浓度从 0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加至 200 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,SOD 的活性逐渐增加,然后当 NaCl 浓度增大为 400 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,SOD 的活性降低(图 4)。该结果表明无论水分胁迫还是 NaCl 胁迫,叶片 SOD 活性与胁迫程度密切相关,且表现出相似的变化趋势。

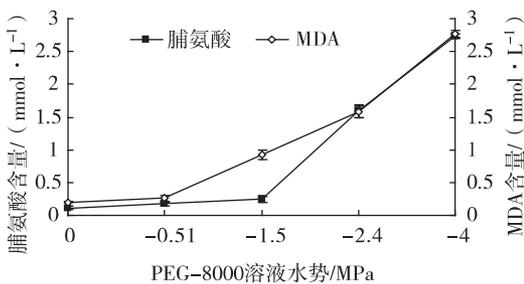


图 1 PEG 溶液对喜旱莲子草叶片脯氨酸和 MDA 的影响

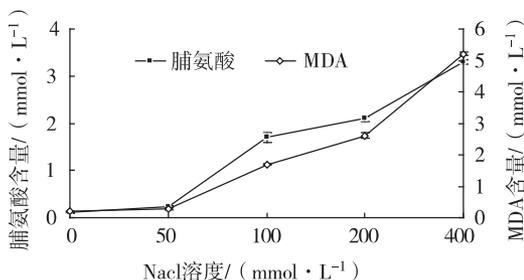


图 2 NaCl 溶液对喜旱莲子草叶的脯氨酸和 MDA 的影响

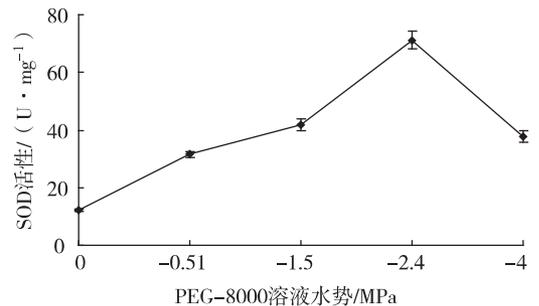


图 3 PEG 溶液对喜旱莲子草叶片 SOD 活性的影响

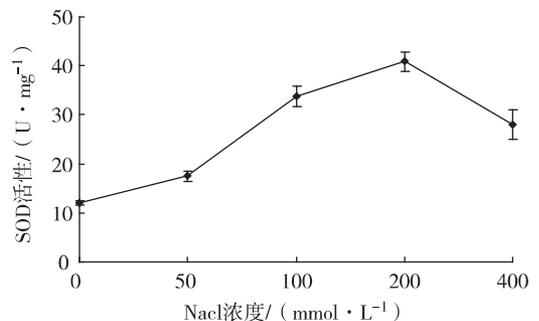


图 4 NaCl 溶液对喜旱莲子草叶片的 SOD 活性的影响

3 讨论

在经 NaCl 或 PEG 溶液培养处理后,喜旱莲子草的鲜重均低于对照,说明盐胁迫或干旱胁迫不利于喜旱莲子草生长(表 1)。不过在本研究中,由于处理时间较短,尚未发现因盐害或干旱胁迫致死的植株,但随着 NaCl 浓度的增加或 PEG 溶液水势的降低,喜旱莲子草的生长量明显受抑制。在 PEG 或 NaCl 胁迫下,尽管喜旱莲子草的生长受到较大的抑制,但其仍有较强的调控适应能力。在实验过程中,喜旱莲子草叶片的脯氨酸含量,均随胁迫程度的加强而增加(图 1~2)。这表明其体内的脯氨酸的积累在抵御逆境及增强耐盐性方面起重要作用。目前,将游离脯氨酸积累的作用大致归结为 4 个方面^[14],其中之一就是进行渗透调节,更好地适应水分亏缺或盐胁迫。在本研究中,游离脯氨酸的变化也暗示了它对渗透调节的适应意义,即在轻度干旱或盐胁迫时,脯氨酸的积累降低细胞内水势,维持膨压。类似地,旱生植物梭梭(*Haloxylon ammodendron*)在干旱胁迫下时亦有同样的生理反应^[15]。

在逆境胁迫下,植物的膜系统,尤其是细胞质膜是环境胁迫伤害的敏感部位和原初位点,在盐胁迫或干旱下植物体内活性氧的积累,能损伤膜脂和膜蛋白,破坏其结构和功能^[16]。MDA 是氧化胁迫下膜脂过氧化过程中的最终产物,它的过量积累对细胞有毒害作用;而且,MDA 含量的高低常用来衡量植物或细胞在逆境胁迫下活性氧伤害与细胞膜伤害程度的重要指标^[17-19]。在本研究中,随着干旱或盐胁迫的加剧,喜旱莲子草的 MDA 含量是逐渐增加的(图 1~2)。这说明干旱或盐胁迫在较长时间的作用后将直接损伤喜旱莲子草细胞膜系统的结构,最终导致其功能丧失。

同时,在逆境胁迫下,MDA 积累反应了活性氧的内在变化。在正常条件下,植物细胞内的活性氧的产生与清除是平衡的。但是,在干旱或盐胁迫下,植物细胞内的活性氧因 SOD 酶等抗氧化酶活性的钝化或失活,或抗氧化小分子物质的消耗,而不能有效维持内环境的平衡,最终使植物生长发育受阻,甚至死亡^[20-22]。研究表明,SOD 活性的高低与植物的抗性能力密切相关。高浦新^[23]发现 10 种荒漠植物的 SOD 活性与植物所生存的环境相适应,其中梭梭叶片的 SOD 活性最高,抗旱性最强。在本研究中,喜旱莲子草叶片的 SOD 活性的变化清楚地表明 SOD 酶(或其他抗氧化酶系统及其抗氧化的小分子物质)可共同防御者活性

氧的攻击,但随着胁迫的加剧,细胞内活性氧的过量积累可能对其造成了不可逆转的毒害作用,因此植株生长受抑制。

Winter 和 Lauchi 认为在 200 mmol · L⁻¹ NaCl 溶液下能生存的植物是中等耐性的^[24]。因此本研究结果表明,试验用喜旱莲子草是中等耐盐植物。这也暗示了喜旱莲子草较能适应盐渍生境和较干旱的生境,从而为适应不同生境而入侵不同的生态系统奠定了基础。当然,在干旱或盐胁迫中,除了分析喜旱莲子草的生长鲜重变化与脯氨酸含量、膜脂过氧化和 SOD 等抗氧化酶活性变化之外,还须探讨该物种抗逆性的其他代谢过程及其分子机理,充分认识其生态适应与进化过程,从而更全面地阐明该物种的入侵机制。

参考文献:

- [1] 潘晓云,耿宇鹏, Alejandro A 等. 入侵植物喜旱莲子草——生物学、生态学及其管理[J]. 植物分类学报, 2007, 45(6): 884-900.
Pan X Y, Geng Y P, Alejandro A, et al. Invasive *Alternanthera philoxeroides* biology, ecology and management[J]. Acta Phytotaxonomica Sinica, 2007, 45(6): 884-900.
- [2] Pan X Y, Geng Y P, Li B, et al. Phynotypic plasticity and dominance shifts of co-occurring native and alien invasive plants in contrasting habitats[J]. Acta Oecologica, 2006, 30: 333-341.
- [3] Kay S H, Haller W T. Evidence for the existence of distinct alligator weed biotypes[J]. Journal of Aquatic Plant Management, 1982, 20: 37-41.
- [4] 李振宇, 解焱. 中国外来入侵种[M]. 北京: 中国林业出版社, 2002: 103.
Li Z Y, Xie Y. Invasive species in China[M]. Beijing: China Forestry Press, 2002: 103.
- [5] 刘春花, 于丹. 喜旱莲子草入侵机制及控制对策[M]//徐汝梅, 叶万辉. 生物入侵——理论与实践. 北京: 科学出版社, 2003: 219-235.
Liu C H, Yu D. Invasive mechanisms of *Alternanthera philoxeroides* and regulating strategies[M]//Xu R M, Ye W H. Biological Invasion: Theory and Practice. Beijing: Science press, 2003: 219-235.
- [6] Bolanos J A, Longstreth D J. Salinity effects on water potential components and bulk elastic modulus of *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb [J]. Plant Physiology, 1984, 75(2): 281-284.
- [7] Song J, Feng G, Tian C Y, et al. Strategies for adaptation of *Suaeda physophora*, *Haloxylon ammodendron* and *Haloxylon persicum* to a saline environment during seed germination stage [J]. Annals of Botany, 2005, 96: 399-405.

- [8] Michel B. Evaluation of the water potentials of solutions of polyethylene glycol 8000 both in the absence and presence of other solutions[J]. *Plant Physiology* ,1983 ,72(1) 66-70.
- [9] Tang A J ,Tian M H ,Long C L. Environmental control of seed dormancy and germination in the short-lived *Olimarabidopsis pumila* (Brassicaceae)[J]. *Journal of Arid Environments* , 2009 ,73 385-388.
- [10] Heath R L ,Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation [J]. *Arch Biochem Biophys* ,1968 ,125 :189-198.
- [11] Bates L S ,Walderen R P ,Teare I D. Rapid determination of free proline for water stress studies[J]. *Plant Soil* ,1973 ,39 (1) 205-207.
- [12] Donahue J L ,Okpodu M C ,Cramer C L ,et al. Responses of antioxidants to paraquat in pea leaves[J]. *Plant Physiology* , 1997 ,113 (1) 249-258.
- [13] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry* ,1976 , 72 248-254.
- [14] 刘爱荣 ,赵可夫. 盐胁迫下盐芥渗透调节物质的积累及其渗透调节作用[J]. *植物生理与分子生物学报* ,2005 ,31 (4) 389-395.
Liu A R ,Zhao K F. Osmotica Accumulation and its role in osmotic adjustment in *Thellungiella halophila* under salt stress[J]. *Acta Photophysiolgia Sinica* ,2005 ,31(4) :389-395.
- [15] 姜孝成 ,潘晓玲 ,郭新红. 渗透胁迫和外源 ABA 对旱生植物梭梭幼苗某些生理性状的影响[J]. *首都师范大学学报 :自然科学版* 2001 ,23(3) 65-69.
Jiang X C ,Pan X L ,Guo X H. Influence of osmotic stress and exogenous ABA on several physiological characters of the seedlings of *Haloxylon ammodendron*(Mey.)Bg[J]. *Journal of Capital Normal University :Natural Science* 2001 ,23(3) : 65-69.
- [16] Bailly C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology [J]. *Seed Science Research* 2004 ,14(2) 93-107.
- [17] Polkakkoff-Mayber A ,Somers G F ,Werker E ,et al. Seeds of *Kosteletzkya virginica* (Malvaceae) :their structure ,germination and salt tolerance. II . Germination and salt tolerance [J]. *American Journal of Botany* ,1994 ,81(1) 54-59.
- [18] Khan M A ,Ungar I A. Effects of thermoperiod on recovery of seed germination of halophytes from saline conditions[J]. *American Journal of Botany* ,1997 ,84(2) 279-283.
- [19] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J]. *植物生理学通讯* ,1991 ,27(2) 84-90.
Chen S Y. Injury of membrane lipidperoxidation to plant cell [J]. *Plant Physiology Communications* ,1991 ,27(2) 84-90.
- [20] 张海波 ,曾幼玲 ,兰海燕 ,等. 盐胁迫下盐桦生理响应的变化分析[J]. *云南植物研究* 2009 ,31(3) 260-264.
Zhang H B ,Zeng Y L ,Lan H Y ,et al. Physiological Responses of *Betula halophila*(Betulaceae) to Salt Stress[J]. *Acta Botanica Yunnanica* 2009 ,31(3) 260-264.
- [21] Lin T P ,Chen M H. Biochemical characteristics associated with the development of the desiccation-sensitive seeds of *Machilus thunbergii* Sieb & Zucc[J]. *Annals of Botany* , 1995 ,76(4) 381-387.
- [22] Smitha R B ,Bennans T ,Mohankumar C ,et al. Oxidative stress enzymes in *Ficus religiosa* L. Biochemical histochemical and anatomical evidences [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B :Biology* 2009 ,95(1) :17-25.
- [23] 高浦新. 10 种荒漠植物叶片超氧化歧化酶活性与植物抗含性关系的研究[J]. *江西农业大学学报 :自然科学学报* , 2002 ,24(4) 537-540.
Gao P X. A Study on Relation between Superoxide Dismutase Activity in Leaves of Ten Desert Plants and their Drought Resistance[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis :Natural Science* 2002 ,24(4) 537-540.
- [24] Winter E ,Lauchli A. Salt tolerance of *Trifokium alexandrium* L. I . Comparison of the salt response of *T. alexandrium* and *T. pretense*[J]. *Austrian Journal of Plant Physiology* ,1982 ,9 (2) 221-226.

(责任编辑 方兴)