

## 钙离子对盐胁迫小麦幼苗氮代谢的影响

王志强, 王春丽, 王同朝, 林同保\*

(河南农业大学农学院/作物生长发育调控省部共建教育部重点实验室, 郑州 450002)

**摘要:**为探讨增强小麦抗盐能力的调控途径,以普通小麦豫麦 34 为材料,研究了  $\text{Ca}^{2+}$  对盐胁迫下小麦幼苗氮代谢及生长的影响。采用全营养液培养小麦幼苗至第一片叶完全展开,更换无钙营养液,并开始不同处理。处理分别为低盐胁迫 ( $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ )、低盐胁迫 +  $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ 、高盐胁迫 ( $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ )、高盐胁迫 +  $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ , 以无  $\text{NaCl}$  胁迫的小麦为对照。5 d 后取样,测定了氮同化酶活性、代谢物含量、积累量及幼苗生长状况。结果表明,  $\text{Ca}^{2+}$  明显缓解了低盐胁迫对小麦幼苗的生长抑制,表现在鲜重、叶绿素及可溶性蛋白含量的增加,而对高盐胁迫下小麦幼苗的生长无明显改善效果;  $\text{Ca}^{2+}$  改善了低盐胁迫下小麦幼苗的氮营养状况,表现在氮积累量的增加,这一效应主要是通过硝酸还原酶 (NR)、谷氨酰胺合成酶 (GS) 以及异柠檬酸脱氢酶 (NADP-ICDH) 活性的增强而实现的。  $\text{Ca}^{2+}$  未能改善高盐胁迫下小麦幼苗氮营养状况的主要限制因子在于 NADP-ICDH 活性未明显增加。

**关键词:**小麦; 盐胁迫; 钙离子; 氮素代谢

文章编号: 1000-0933(2009)08-4339-07 中图分类号: Q945.79 文献标识码: A

## Effects of $\text{Ca}^{2+}$ on nitrogen metabolism in wheat seedlings exposed to salt stress

WANG Zhi-Qiang, WANG Chun-Li, WANG Tong-Chao, LIN Tong-Bao\*

Agronomy College of Henan Agricultural University, Key Laboratory of MOE for Regulating and Controlling Crop Growth and Development, Zhengzhou 450002, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(8): 4339 ~ 4345.

**Abstract:** To seek ways for improving salt-tolerance of wheat plants, experiments were conducted to examine the ameliorative effects of  $\text{Ca}^{2+}$  on nitrogen metabolism under salt stress using an ordinary wheat cultivar (*Triticum aestivum* L. cv. Yumai 34) as the material. The wheat seedlings were cultured in full nutrient solution. The first leaf being fully expanded, different treatments were initiated by culturing the plants in the nutrient solution without calcium.  $\text{NaCl}$  ( $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  and  $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) and combinations of  $\text{NaCl} + \text{Ca}^{2+}$  ( $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} + 4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  and  $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} + 4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) were applied to the growing plants using no salt-stressed plants as control. After 5 days of treatments, the activities of nitrogen assimilation enzymes, the amount of nitrogen assimilation and the growth status of wheat seedlings were determined. The results showed that  $\text{Ca}^{2+}$  significantly alleviated the depressed-growth of wheat seedlings under low salt stress, manifesting the enhanced fresh weight, chlorophyll and soluble protein contents; while  $\text{Ca}^{2+}$  did not show obvious ameliorative effects under high salt stress.  $\text{Ca}^{2+}$  promoted the nitrogen assimilation and improved the status of nitrogen nutrition in wheat plants exposed to low salt stress, which could be mainly due to the enhanced activities of nitrate reductase (NR), glutamine synthetase (GS) and NADP-dependent isocitrate dehydrogenase (NADP-ICDH). The minor ameliorative effects of  $\text{Ca}^{2+}$  on nitrogen assimilation in wheat seedlings under high salt stress could be explained by the insignificant increase of NADP-ICDH activity.

**基金项目:**国家粮食丰产科技工程资助项目(2006BAD02A07-2); 河南省高校杰出科研人才创新工程资助项目(2007KYCX003); 河南省重点农业攻关资助项目(072102170002)

收稿日期: 2008-12-14; 修订日期: 2009-06-15

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: linlab@163.com

**Key Words:** wheat; salt-stress; calcium; nitrogen metabolism

盐胁迫是限制作物生长发育和产量的主要环境因素之一。据统计,我国约有  $2.7 \times 10^7 \text{ hm}^2$  不同程度的盐碱地<sup>[1]</sup>,并且由于人口增长、工业发展、不合理农业灌溉和施肥等原因,次生盐碱化土壤面积还在继续扩大,直接造成了可用耕地面积的急剧下降,严重威胁着我国的粮食安全。在人口不断增多、耕地面积不断减少的现实压力下,如何利用大面积的盐碱地发展粮食生产,是迫切需要解决的重大课题。小麦是我国主要的粮食作物之一,在保障国家粮食安全方面发挥着巨大的作用。而小麦的抗盐能力相对较弱,特别是在幼苗期、拔节-孕穗期容易引起盐害<sup>[2]</sup>,严重限制了小麦产量的进一步提高。探讨小麦抗盐机理与调控技术对于提高小麦综合生产能力、保障我国粮食安全和促进生态环境保护均有重要意义。

营养缺乏是盐胁迫下作物生长受到抑制的主要原因之一<sup>[3]</sup>。氮素是植物的生命元素。蛋白质、核酸、辅酶、磷脂、叶绿素等化合物中都含有氮素。此外,某些植物激素、维生素等也含有氮素。在盐胁迫下,作物氮素同化能力降低,造成氮素营养的相对缺乏<sup>[4]</sup>。改善盐胁迫条件下的氮素营养状况,对于提高作物的抗盐能力至关重要。钙不仅是植物必需的营养元素之一,而且还作为第二信使广泛地参与多种代谢活动<sup>[5-7]</sup>。此外,钙在植物抗逆反应中的作用也受到广泛关注<sup>[8]</sup>。关于盐胁迫下钙离子的生理效应在不同作物上有过许多研究<sup>[1,9,10]</sup>,但是关于钙离子对盐胁迫下小麦氮素代谢的调节尚未见报道。钙离子对小麦幼苗不同的氮同化途径有明显的调节作用,并初步确立了小麦幼苗氮素利用较有效的外源钙浓度<sup>[11]</sup>。本论文在以前工作的基础上,研究了钙离子对盐胁迫下小麦幼苗不同氮同化途径的调节及其对氮同化量和生长状况的影响,期望进一步阐明小麦氮代谢的抗盐反应,并探讨提高小麦抗盐性的可能调控途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料及生长条件

供试小麦为豫麦 34 号 (*Triticum aestivum* L. cv. Yumai 34)。种子先用 0.1% 的  $\text{HgCl}_2$  溶液消毒 10 min,用蒸馏水洗净,平铺于 3 层湿润的滤纸上,置于 25℃ 的黑暗恒温培养箱中,使种子萌发,其间每天喷水以维持滤纸湿度。3 d 后,转入人工气候箱中,每天光照 14 h,光照强度为  $110 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ,昼夜温度分别为 25℃ 和 20℃,相对湿度为 60% 左右。在转入人工气候箱的第 2 天,把小麦幼苗移栽到网格盘上。每个网格盘栽入 60 棵苗,使其浮于盛有营养液的塑料桶中,每桶装 2 L 营养液,营养液 (pH 6.8) 的成分及浓度如下:  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$ ,  $0.75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}_2\text{SO}_4$ ,  $0.65 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ MgSO}_4$ ,  $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ FeCl}_3$ ,  $2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ MnCl}_2$ ,  $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ H}_3\text{BO}_3$ ,  $0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CuSO}_4$ ,  $2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ ZnSO}_4$  和  $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} (\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ 。营养液中每天通氧气 30 min。

### 1.2 试验处理及取样

待小麦幼苗第 1 片叶完全展开后,开始进行试验处理。为排除营养液中钙离子的干扰,更换原营养液中  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}(\text{NO}_3)_2$  为  $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KNO}_3$ 。处理分别为:对照 (CK)、 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$  (低盐胁迫)、 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl} + 4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$  (低盐胁迫 + 钙)、 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$  (高盐胁迫) 和  $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl} + 4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$  (高盐胁迫 + 钙)。处理方法是在营养液中直接加相应量的 NaCl 和  $\text{CaCl}_2$ 。处理 5 d 后,选择生长均匀、健壮的幼苗进行相关的分析、测定。整个试验至少重复 3 次。

### 1.3 测定项目及方法

#### 1.3.1 生物量

取长势一致的小麦幼苗 20 棵,用纸吸干表面水分后,用千分之一电子天平直接称重,并换算成每棵小麦幼苗的鲜重。

#### 1.3.2 叶绿素和可溶性蛋白

叶绿素和可溶性蛋白含量分别参照 Arnon 和 Bradford 的方法进行测定<sup>[12,13]</sup>。

### 1.3.3 硝酸还原酶

NR 活性测定参照 Aslam 等的方法<sup>[14]</sup>。以  $\text{NO}_2^-$  的生成量衡量 NR 活性,单位为  $\mu\text{g NO}_2^- \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{FW}$ 。

### 1.3.4 谷氨酰胺合成酶、谷氨酸脱氢酶和异柠檬酸脱氢酶

GS、NADH-GDH 和 NADP-ICDH 活性参照 Lu 等的方法进行测定<sup>[15]</sup>,其活性单位的定义参考文献<sup>[11]</sup>。

### 1.3.5 铵离子

按照 Lu 等的方法进行测定<sup>[15]</sup>。

### 1.3.6 谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、丝氨酸、丙氨酸含量

游离氨基酸的提取和测定分别采用王志强等<sup>[11]</sup>和 Dimartino 等<sup>[16]</sup>的方法,采用高效液相(HPLC)系统进行测定。

### 1.3.7 氮积累量

用半微量凯氏定氮法<sup>[17]</sup>测定全氮含量。

## 1.4 数据处理与分析

文中数据均由 3 次重复的平均值和标准误组成,采用 LSD 法对数据进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 小麦幼苗鲜重、叶绿素和可溶性蛋白含量的变化

从表 1 可以看出,盐胁迫下小麦幼苗鲜重显著降低,在低盐胁迫和高盐胁迫下,其分别降低了 150.27 mg 和 181.07 mg,降幅分别为 43.2% 和 52.1%。低盐胁迫下加入  $\text{Ca}^{2+}$  之后,小麦幼苗鲜重显著增加,增幅为 18.9%。高盐胁迫下, $\text{Ca}^{2+}$  加入使小麦幼苗鲜重增加 7.1%,未达显著水平。说明  $\text{Ca}^{2+}$  对小麦幼苗盐胁迫的缓解作用在低盐胁迫下表现明显。 $\text{Ca}^{2+}$  对盐胁迫下小麦幼苗叶绿素和可溶性含量的调节作用表现出类似的效果。

表 1  $\text{Ca}^{2+}$  对盐胁迫下小麦幼苗鲜重、叶绿素和可溶性蛋白含量的影响

Table 1 Effects of  $\text{Ca}^{2+}$  on fresh weight, chlorophyll and soluble protein contents in wheat seedlings under salt stress ( $\text{mg plant}^{-1}$ )

| 处理 Treatments                             | 鲜重<br>Fresh weight  | 叶绿素含量<br>Chlorophyll | 可溶性蛋白含量<br>Soluble protein |
|-------------------------------------------|---------------------|----------------------|----------------------------|
| 对照 Control                                | 347.53 $\pm$ 5.16 a | 0.529 $\pm$ 0.033 a  | 2.413 $\pm$ 0.061 a        |
| 低盐胁迫 Low salinity                         | 197.26 $\pm$ 3.78 c | 0.326 $\pm$ 0.019 c  | 1.030 $\pm$ 0.022 c        |
| 低盐胁迫 + 钙 Low salinity + $\text{Ca}^{2+}$  | 234.55 $\pm$ 2.09 b | 0.419 $\pm$ 0.023 b  | 1.678 $\pm$ 0.052 b        |
| 高盐胁迫 High salinity                        | 166.46 $\pm$ 4.12 d | 0.143 $\pm$ 0.002 d  | 0.833 $\pm$ 0.023 c        |
| 高盐胁迫 + 钙 High salinity + $\text{Ca}^{2+}$ | 178.22 $\pm$ 4.88 d | 0.182 $\pm$ 0.005 d  | 1.201 $\pm$ 0.066 bc       |

表中数据由平均数和标准误差组成,后面的不同字母表示统计学上的显著差异性( $P < 0.05$ ); Data are the means and standard error ( $n = 3$ ), Letters indicate statistical differences ( $P < 0.05$ ); 下同 the same below

### 2.2 硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶活性

从表 2 看出,NR 活性在盐胁迫下明显降低, $\text{Ca}^{2+}$  减轻了盐胁迫的抑制作用。在低、高盐胁迫下,NR 活性分别比对照降低了 29.38 个、56.2 个活性单位,而  $\text{Ca}^{2+}$  使低、高盐胁迫下 NR 活性分别增加了 13.98 个、11.13 个活性单位,均达显著水平。GS 活性在低盐胁迫下显著增加,而在高盐胁迫下显著降低,加入  $\text{Ca}^{2+}$  之后,其活性均显著上升。

表 2  $\text{Ca}^{2+}$  对盐胁迫下小麦幼苗硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶活性的影响

Table 2 Effects of  $\text{Ca}^{2+}$  on NR and GS activities in wheat seedlings under salt stress

| 处理 Treatments                             | 硝酸还原酶 NR( $\mu\text{g NO}_2^- \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{FW}$ ) | 谷氨酰胺合成酶 GS( $\mu\text{mol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{FW}$ ) |
|-------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 对照 Control                                | 84.02 $\pm$ 2.33 a                                                       | 173.75 $\pm$ 6.25 d                                           |
| 低盐胁迫 Low salinity                         | 54.64 $\pm$ 3.56 c                                                       | 216.74 $\pm$ 5.46 b                                           |
| 低盐胁迫 + 钙 Low salinity + $\text{Ca}^{2+}$  | 68.62 $\pm$ 4.11 b                                                       | 231.08 $\pm$ 4.33 a                                           |
| 高盐胁迫 High salinity                        | 27.82 $\pm$ 2.30 e                                                       | 146.39 $\pm$ 3.31 e                                           |
| 高盐胁迫 + 钙 High salinity + $\text{Ca}^{2+}$ | 38.95 $\pm$ 3.25 d                                                       | 188.51 $\pm$ 3.69 c                                           |

### 2.3 谷氨酸脱氢酶和异柠檬酸脱氢酶活性变化

NADH-GDH 和 NADP-ICDH 活性测定结果列于表 3。从表可以看出,NADP-ICDH 在盐胁迫下活性显著增加, $\text{Ca}^{2+}$  对其活性有一定的促进作用,但均未达显著。NADH-GDH 活性在低盐胁迫下增加不明显, $\text{Ca}^{2+}$  对其活性亦未见明显的调控效应。在高盐胁迫下,NADH-GDH 活性显著增加,而  $\text{Ca}^{2+}$  使其明显降低。

表 3  $\text{Ca}^{2+}$  对盐胁迫下小麦幼苗谷氨酸脱氢酶和异柠檬酸脱氢酶活性的影响

Table 3 Effects of  $\text{Ca}^{2+}$  on NADH-GDH and NADP-ICDH activities in wheat seedlings under salt stress

| 处理 Treatments                             | 谷氨酸脱氢酶 NADH-GDH<br>( $\mu\text{mol NADH h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{FW}$ ) | 异柠檬酸脱氢酶 NADP-ICDH<br>( $\mu\text{mol NADPH h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{FW}$ ) |
|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| 对照 Control                                | 9.41 $\pm$ 0.76 c                                                          | 46.77 $\pm$ 2.09 d                                                            |
| 低盐胁迫 Low salinity                         | 10.82 $\pm$ 0.77 c                                                         | 63.42 $\pm$ 1.31 c                                                            |
| 低盐胁迫 + 钙 Low salinity + $\text{Ca}^{2+}$  | 9.77 $\pm$ 0.64 c                                                          | 74.61 $\pm$ 2.13 b                                                            |
| 高盐胁迫 High salinity                        | 18.12 $\pm$ 0.79 a                                                         | 90.45 $\pm$ 1.76 a                                                            |
| 高盐胁迫 + 钙 High salinity + $\text{Ca}^{2+}$ | 15.65 $\pm$ 0.68 b                                                         | 94.28 $\pm$ 1.56 a                                                            |

### 2.4 铵离子含量变化

$\text{Ca}^{2+}$  对盐胁迫下小麦幼苗铵离子含量的影响如图 1 所示。从图中可以看出,低盐胁迫下,小麦幼苗铵离子含量增加不明显,而在高盐胁迫下,其呈现显著的增加,增幅为 98.5%。 $\text{Ca}^{2+}$  加入后,铵离子含量在低盐胁迫下降幅未达显著水平,而在高盐胁迫下呈显著降低趋势,降幅为 19.3%。

### 2.5 甘氨酸、丝氨酸和丙氨酸含量变化

甘氨酸、丝氨酸和丙氨酸含量可以有效地反映植物光呼吸作用的强弱<sup>[16]</sup>。 $\text{Ca}^{2+}$  对盐胁迫下小麦幼苗甘氨酸、丝氨酸和丙氨酸含量的影响列于表 4。从表 4 可以看出,Gly、Ser 和 Ala 含量随着盐胁迫程度的加大而显著增加,特别在高盐胁迫下增加明显,与对照相比增加幅度分别为 267.1%、166.2% 和 145.2%。低盐胁迫下, $\text{Ca}^{2+}$  对它们含量的影响不明显,而在高盐胁迫下, $\text{Ca}^{2+}$  显著降低了它们的含量,降幅分别为 31.5%、22.2% 和 21.8%。

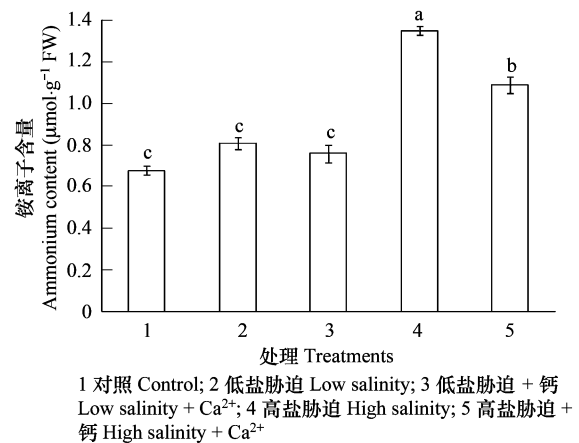


图 1  $\text{Ca}^{2+}$  对盐胁迫下小麦幼苗中游离铵离子含量的影响

Fig. 1 Effect of  $\text{Ca}^{2+}$  on free ammonium ion content in wheat seedlings under salt stress

表 4  $\text{Ca}^{2+}$  对盐胁迫下小麦幼苗甘氨酸、丝氨酸和丙氨酸含量的影响

Table 4 Effects of  $\text{Ca}^{2+}$  on Gly, Ser and Ala contents in wheat seedlings under salt stress ( $\mu\text{g g}^{-1} \text{FW}$ )

| 处理 Treatments                             | 甘氨酸 Glycine       | 丝氨酸 Serine        | 丙氨酸 Alanine      |
|-------------------------------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| 对照 Control                                | 34.7 $\pm$ 3.1 d  | 74.5 $\pm$ 6.4 c  | 24.1 $\pm$ 0.9 d |
| 低盐胁迫 Low salinity                         | 46.9 $\pm$ 3.7 c  | 132.2 $\pm$ 2.5 b | 36.7 $\pm$ 0.8 c |
| 低盐胁迫 + 钙 Low salinity + $\text{Ca}^{2+}$  | 54.1 $\pm$ 3.3 c  | 141.9 $\pm$ 3.3 b | 38.4 $\pm$ 0.7 c |
| 高盐胁迫 High salinity                        | 127.4 $\pm$ 6.3 a | 198.3 $\pm$ 5.6 a | 59.1 $\pm$ 0.9 a |
| 高盐胁迫 + 钙 High salinity + $\text{Ca}^{2+}$ | 87.3 $\pm$ 4.9 b  | 154.2 $\pm$ 4.8 b | 46.2 $\pm$ 1.0 b |

### 2.6 谷氨酸和谷氨酰胺含量变化

谷氨酸和谷氨酰胺的含量见表 5。从表中可以看出, $\text{Ca}^{2+}$  对盐胁迫下小麦幼苗 Glu 和 Gln 含量的调控效应不同。谷氨酸含量随着盐胁迫程度的加大显著增加,低盐胁迫下  $\text{Ca}^{2+}$  对其调节效应不明显,而在高盐胁迫下  $\text{Ca}^{2+}$  使其含量显著降低。谷氨酰胺含量在高盐胁迫下增加显著,在低盐胁迫下增加不明显。而  $\text{Ca}^{2+}$  加入

后,其含量均呈现显著的增加。

表 5  $\text{Ca}^{2+}$  对盐胁迫下小麦幼苗谷氨酸和谷氨酰胺含量的影响

Table 5 Effects of  $\text{Ca}^{2+}$  on Glu and Gln contents in wheat seedlings under salt stress ( $\mu\text{g g}^{-1}\text{FW}$ )

| 处理 Treatments                             | 谷氨酸 Glutamate     | 谷氨酰胺 Glutamine   |
|-------------------------------------------|-------------------|------------------|
| 对照 Control                                | 126.6 $\pm$ 3.2 c | 29.0 $\pm$ 2.3 d |
| 低盐胁迫 Low salinity                         | 180.7 $\pm$ 3.4 b | 30.1 $\pm$ 1.9 d |
| 低盐胁迫 + 钙 Low salinity + $\text{Ca}^{2+}$  | 192.1 $\pm$ 3.8 b | 35.5 $\pm$ 2.6 c |
| 高盐胁迫 High salinity                        | 268.2 $\pm$ 3.9 a | 72.6 $\pm$ 5.8 b |
| 高盐胁迫 + 钙 High salinity + $\text{Ca}^{2+}$ | 203.5 $\pm$ 3.7 b | 93.0 $\pm$ 6.1 a |

## 2.7 氮素积累量的变化

从图 2 可以看出,小麦幼苗氮素积累量在低、高盐胁迫下均比对照有明显的降低,降幅分别为 37.8% 和 52.4%,达显著水平。加入  $\text{Ca}^{2+}$  之后,低盐胁迫下小麦幼苗氮素积累量明显增加,增幅为 29.4%,达显著水平,而高盐胁迫下增加不明显。

## 3 讨论

盐胁迫下小麦幼苗的生长受到明显抑制,表现在鲜重、叶绿素和可溶性蛋白含量的降低。低盐胁迫下,  $\text{Ca}^{2+}$  明显促进了鲜重、叶绿素和可溶性蛋白含量的增加,表现出对盐胁迫一定的缓解效应,而高盐胁迫下,这种效应表现不明显。说明外源  $\text{Ca}^{2+}$  对缓解低盐胁迫更有效。

氮同化是高等植物最基本的生理代谢过程之一,涉及许多酶催生化反应。叶片是植物氮同化的主要部位<sup>[18]</sup>。对叶片中氮同化酶活性的测定结果表明,NR 活性在盐胁迫下明显降低,  $\text{Ca}^{2+}$  降低了盐胁迫对其活性的抑制(表 2),说明  $\text{Ca}^{2+}$  有利于增强盐胁迫下小麦幼苗对硝态氮的利用。NR 是典型的诱导酶,受其催化底物硝酸盐的诱导<sup>[19,20]</sup>。虽然本试验中  $\text{Ca}^{2+}$  促进了盐胁迫下 NR 活性,但其原因是否是因为  $\text{Ca}^{2+}$  促进了硝酸盐的吸收,还需要进一步研究。但肯定的是,  $\text{Ca}^{2+}$  增加了小麦盐胁迫下由硝酸盐还原而生成的铵离子量。游离铵离子必须尽快被同化为有机氮,一方面解除铵离子的毒害,另一方面满足植物氮营养需求<sup>[21]</sup>。铵离子同化可以通过 GS/GOGAT 循环和 GDH 途径来实现<sup>[22]</sup>。结果表明,低盐胁迫下 GS 活性增加,可能在解除光呼吸增强产生大量铵离子的毒害方面起主要作用,而 NADH-GDH 活性无明显变化。高盐胁迫下,光呼吸强度继续加大,GS 活性降低,NADH-GDH 活性显著增加,此时 NADH-GDH 可能在解除铵离子毒害方面起重要作用。但由于 NADH-GDH 同化铵离子的能力有限,所以铵离子表现出显著的增加,增加的铵离子含量可能是高盐伤害的原因之一。  $\text{Ca}^{2+}$  明显增加了盐胁迫下 GS 活性(表 2),而 NADH-GDH 活性则在  $\text{Ca}^{2+}$  加入后表现出幅度不同的降低(表 3)。低盐胁迫下,  $\text{Ca}^{2+}$  对光呼吸氨基酸含量有微弱的促进作用(表 4),提示了通过光呼吸产生的铵离子量有一定程度的增加<sup>[16]</sup>,加之 NR 活性增强,可以推断铵离子总量在加入  $\text{Ca}^{2+}$  后会增加,但由于 GS 活性显著增强,游离铵离子含量反而呈下降趋势,但未达显著水平(图 1)。高盐胁迫下,  $\text{Ca}^{2+}$  加入后,光呼吸氨基酸含量明显降低(表 4),提示了  $\text{Ca}^{2+}$  显著降低了高盐胁迫下小麦幼苗的光呼吸活性,通过光呼吸产生的铵离子量显著下降。研究表明,植物通过光呼吸产生的氨量是初级氮同化产生氨量的十倍以上<sup>[23]</sup>,加之 GS 活性显著升高,这可能是导致游离铵离子含量降低的主要原因(图 1)。NADH-GDH 对铵离子的亲和力较低,而铵离子作为反应底物及信号分子,对其活性有明显的影响<sup>[24]</sup>。因此,二者的变化趋势一致(表 3、图 1)。

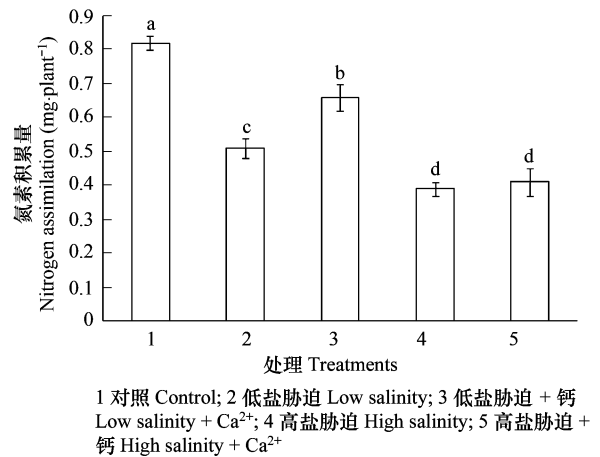


图 2  $\text{Ca}^{2+}$  对盐胁迫下小麦幼苗氮素积累量的影响

Fig. 2 Effect of  $\text{Ca}^{2+}$  on nitrogen content in wheat seedlings under salt stress

氮同化需要碳架即 2-酮戊二酸的供应,其主要是由 NADP-ICDH 催化的反应来提供的<sup>[25]</sup>。盐胁迫下, NADP-ICDH 活性明显增加,为谷氨酸的合成提供了更多的碳架,二者在盐胁迫下的变化趋势一致(表 3、5)。增加的谷氨酸一方面自身起渗透调节作用,另一方面,作为前体进一步转化为脯氨酸<sup>[26]</sup>,从而在抗盐反应中起重要作用。低盐胁迫下加入  $\text{Ca}^{2+}$  后, NADP-ICDH 活性明显增强,谷氨酸含量变化不大,而谷氨酰胺含量明显增加(表 3、表 5),可能是由于谷氨酰胺对铵离子有更强的积蓄能力<sup>[11]</sup>。高盐胁迫下加入  $\text{Ca}^{2+}$  后, NADP-ICDH 活性仅有幅度不大的增加(表 3),提示高盐胁迫下  $\text{Ca}^{2+}$  并没有增加碳骨架的供应,有限的碳骨架主要用于谷氨酰胺的合成,从而蓄积更多的氮素,并由此引起谷氨酸含量的降低(表 5)。

小麦幼苗氮积累量随盐胁迫程度的加大显著降低,  $\text{Ca}^{2+}$  明显促进了低盐胁迫下氮的积累,对高盐胁迫下氮积累量影响不大(图 2),这与小麦幼苗的生长状况表现一致(表 1),提示了氮素营养的改善可能是  $\text{Ca}^{2+}$  缓解低盐胁迫的原因之一。  $\text{Ca}^{2+}$  改善低盐胁迫下小麦幼苗的氮营养状况主要是通过 NR、GS 及 NADP-ICDH 活性的提高实现的,与 NADH-GDH 活性关系不大。高盐胁迫下,  $\text{Ca}^{2+}$  虽然对 NR、GS 的活性亦有显著的促进作用(表 2),但由于 NADP-ICDH 活性没有明显增加(表 3),未能为氮同化提供更多的碳骨架。所以,  $\text{Ca}^{2+}$  对高盐胁迫下小麦幼苗氮营养的改善效应不明显,体现在氮素积累量的不明显变化(图 2)。  $\text{Ca}^{2+}$  对不同盐胁迫下小麦幼苗氮同化酶、特别是 NADP-ICDH 的调控差异性有待深入研究。

#### References:

- [ 1 ] Zhu X J, Yang J S, Liang Y C, Lou Y S, Yang X Y. Effects of exogenous calcium on photosynthesis and its related physiological characteristics of rice seedlings under salt stress. *Scientia Agricultura Sinica*, 2004, 37(10): 1497—1503.
- [ 2 ] Gu Y F, Ding S Y, Li T T, Wang X, Li J J, Zhang L X. Effects of saline stress on dry matter partitioning and ecophysiological characteristics of winter wheat seedlings. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(2): 840—845.
- [ 3 ] Chinnusamy V, Jagendorf A, Zhu J K. Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*, 2005, 45(2): 437—448.
- [ 4 ] Wang Z Q, Ding L, Xu J Y, Liang W W, Lin T B. Effects of pretreatment with sucrose on nitrogen assimilation in wheat seedlings under salt stress. *Journal of Henan Agricultural University*, 2008, 42(3): 268—272.
- [ 5 ] McAinsh P R, Brownlee A M, Hetherington A M. Calcium ions as second messengers in guard cell signal transduction. *Physiologia Plantarum*, 1997, 100(1): 16—29.
- [ 6 ] Xu X M, Ye H C, Li G F. Progress in research of plant tolerance to saline stress. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2000, 6(4): 379—387.
- [ 7 ] He L F, Shen Z G, Liu Y L. Effects of calcium on the function and lipid composition of tonoplast from two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar roots under aluminum stress. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2000, 23(1): 10—13.
- [ 8 ] Tong Y L, Feng J W, Li Y H. Advances in research on plant resistance to salt stress. *Letters in Biotechnology*, 2008, 19(1): 138—140.
- [ 9 ] Zhu Y, He C Q, Du W, Hu Y L, Chen Y. Effects of exogenous calcium on the seed germination and seedling ions distribution of *Festuca arundinacea* under salt stress. *Transactions of the CSAE*, 2007, 23(11): 133—137.
- [ 10 ] Zhao X, Wang L Q, Zhou C J, Shang H B. Effects of calcium on seed germination of different winter wheat genotypes under salt stress. *Chinese Journal of Soil Science*, 2006, 37(4): 748—752.
- [ 11 ] Wang Z Q, Wang C L, Lin T B. Effects of exogenous  $\text{Ca}^{2+}$  on nitrogen metabolism in wheat seedlings. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(8): 3662—3667.
- [ 12 ] Aron D. Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 1949, 24(1): 1—8.
- [ 13 ] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1-2): 248—254.
- [ 14 ] Aslam M, Hukffaker R C, Rains D W. Early effects of salinity on nitrate assimilation in barley seedlings. *Plant Physiology*, 1984, 76(2): 321—325.
- [ 15 ] Lu B B, Yuan Y Z, Zhang C F, Ou J Q, Zhou W, Lin Q H. Modulation of key enzymes involved in ammonium assimilation and carbon metabolism by low temperature in rice (*Oryza sativa* L.) roots. *Plant Science*, 2005, 169(2): 295—302.
- [ 16 ] Dimartino C, Delfine S, Alvino A, Loreto F. Photorespiration rate in spinach leaves under moderate NaCl stress. *Photosynthetica*, 1999, 36(1-2): 233—242.
- [ 17 ] Wang Z F, Chen X L, Yu M Y, Wang T Y, Wang K B, Liu Y T, Ren F S, Xu B. Comparison on changes of root absorption activity, canopy

- apparent photosynthesis rate and nutrient distribution of two winter wheat varieties with different spike type. *Acta Agronomica Sinica*, 1997, 23 (5): 607—614.
- [18] Foyer C H, Noctor G. 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, 2002. 1—22.
- [19] Pilgrim M L, Caspar T, Quail P H, McClung C R. Circadian and light-regulated expression of nitrate reductase in *Arabidopsis*. *Plant Molecular Biology*, 1993, 23(2): 349—364.
- [20] Crawford N M. Nitrate: Nutrient and signal for plant growth. *The Plant Cell*, 1995, 7(7): 859—868.
- [21] Kronzucker H J, Britto D T, Davenport R J, Tester M. Ammonium toxicity and the real cost of transport. *Trends in Plant Science*, 2001, 6(8): 335—337.
- [22] Ireland R J, Lea P J. The enzymes of glutamine, glutamate, asparagine and aspartate metabolism. In: Singh B K, ed. *Plant Amino Acids. Biochemistry and Biotechnology*. New York: Dekker, 1999. 49—109.
- [23] Wingler A, Lea P J, Quick W P, Leegood R C. Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2000, 355(1402): 1517—1529.
- [24] Ferrario-Mery S, Hodges M, Hirel B, Foyer C H. Photorespiration-dependent increases in phosphoenolpyruvate carboxylase, isocitrate dehydrogenase and glutamate dehydrogenase in transformed tobacco plants deficient in ferredoxin-dependent glutamine- $\alpha$ -ketoglutarate aminotransferase. *Planta*, 2002, 214(6): 877—886.
- [25] Gálvez S, Lancien M, Hodges M. Are isocitrate dehydrogenases and 2-oxoglutarate involved in the regulation of glutamate synthesis? *Trends in Plant Science*, 1999, 4(12): 484—490.
- [26] Wang Z Q, Yuan Y Z, Ou J Q, Lin Q H, Zhang C F. Glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase contribute differentially to proline accumulation in leaves of wheat (*Triticum aestivum*) seedlings exposed to different salinity. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164(6): 695—701.

#### 参考文献:

- [1] 朱晓军, 杨劲松, 梁永超, 娄运生, 杨晓英. 盐胁迫下钙对水稻幼苗光合作用及相关生理特性的影响. *中国农业科学*, 2004, 37(10): 1497~1503.
- [2] 谷艳芳, 丁圣彦, 李婷婷, 王欣, 李俊娇, 张丽霞. 盐胁迫对冬小麦幼苗干物质分配和生理生态特性的影响. *生态学报*, 2009, 29(2): 840~845.
- [4] 王志强, 丁立, 徐晋豫, 梁威威, 林同保. 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*, 2008, 42(3): 268~272.
- [6] 许祥明, 叶和春, 李国风. 植物抗盐机理的研究进展. *应用与环境生物学报*, 2000, 6(4): 379~387.
- [7] 何龙飞, 沈振国, 刘友良. 铝胁迫下钙对小麦根液泡膜功能和膜脂组成的影响. *南京农业大学学报*, 2000, 23(1): 10~13.
- [8] 佟友丽, 冯君伟, 李玉花. 植物抗盐胁迫研究进展. *生物技术通讯*, 2008, 19(1): 138~140.
- [9] 朱义, 何池全, 杜玮, 胡一灵, 陈宇. 盐胁迫下外源钙对高羊茅种子萌发和幼苗离子分布的影响. *农业工程学报*, 2007, 23(11): 133~137.
- [10] 赵旭, 王林权, 周春菊, 尚浩博. 钙离子对两种基因型冬小麦萌发过程中盐胁迫效应的影响. *土壤通报*, 2006, 37(4): 748~752.
- [11] 王志强, 王春丽, 林同保. 外源钙离子对小麦幼苗氮素代谢的影响. *生态学报*, 2008, 28(8): 3662~3667.
- [17] 王志芬, 陈学留, 余美炎, 王同燕, 王奎波, 刘益同, 任凤山, 徐兵. 不同穗型的两个冬小麦品种根系活力、光合特性及物质分配变化的比较研究. *作物学报*, 1997, 23(5): 607~614.