

DOI: 10.5846/stxb201305070965

王芳, 杨莎, 郭峰, 孟静静, 孟庆伟, 万书波, 李新国. 钙对花生幼苗生长、活性氧积累和光抑制程度的影响. 生态学报, 2015, 35(5): 1496-1504.

Wang F, Yang S, Guo F, Meng J J, Meng Q W, Wan S B, Li X G. Effects of calcium on peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedling growth, accumulation of reactive oxygen species and photoinhibition. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(5): 1496-1504.

钙对花生幼苗生长、活性氧积累和光抑制程度的影响

王 芳^{1,2}, 杨 莎², 郭 峰², 孟静静², 孟庆伟¹, 万书波², 李新国^{2,*}

1 山东农业大学生命科学院, 泰安 271018

2 山东省农业科学院生物技术研究中心和山东省作物遗传改良与生态生理重点实验室, 济南 250100

摘要:为探讨钙元素对花生幼苗生长的影响,以花育 22 为试材,用改良的 Hoagland 溶液进行培养,培养液钙离子(Ca^{2+})浓度分别为 0、6 和 12 mmol/L(依次简称为 CK、C6 和 C12),研究了不同 Ca^{2+} 浓度培养下花生幼苗生长以及根系和叶片活性氧(ROS)的积累情况。结果表明, Ca^{2+} 显著提高花生植株的株高和鲜重,并降低根冠比,而且正常培养条件下, Ca^{2+} 显著提高根系活力、降低叶片和根系的 ROS 积累,而且 C12 幼苗的生理状态要好于 C6。花生幼苗功能叶在高温(42 °C)强光(1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)胁迫处理下,与 CK 植株相比,C6 和 C12 叶片的过氧化氢(H_2O_2)和超氧阴离子(O_2^-)的积累水平低、其叶片 PS II 最大光化学效率(F_v/F_m)高、光系统 II (PS II)的关闭程度低,而且 C12 幼苗的活性氧积累和光抑制程度都明显低于 C6,表明高温强光胁迫下, Ca^{2+} 有利于减轻花生幼苗叶片的光抑制和 ROS 积累。C6 和 C12 叶片的部分 ROS 清除酶活性以及有关渗透调节物质的含量明显高于 CK,丙二醛(MDA)的含量明显低于 CK,表明胁迫条件下 Ca^{2+} 通过提高 ROS 清除酶活性和渗透调节物质含量降低 ROS 的积累和危害,保护花生类囊体膜从而保证花生正常生长。

关键词:花生; 钙; 高温强光; 光抑制; 活性氧

Effects of calcium on peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedling growth, accumulation of reactive oxygen species and photoinhibition

WANG Fang^{1,2}, YANG Sha², GUO Feng², MENG Jingjing², MENG Qingwei¹, WAN Shubo², LI Xinguo^{2,*}

1 College of Life Science, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China

2 Biotechnology Research Center of Shandong Academy of Agricultural Sciences; Shandong Provincial Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Ecology and Physiology, Ji'nan 250100, China

Abstract: Peanut (*Arachis hypogaea* L.) is one of the most important oil-crops in the world, and Ca is a critical nutrient for this crop to achieve high yields. Severe Ca deficiency in soil could result in unfilled peanut pods and caused decrease in yield. Ca^{2+} acts as a regulator of many physiological and biochemical processes in response to abiotic stresses in plants. Transient elevation of free Ca^{2+} in the cytoplasm was detected in plants in response to various stresses, such as high temperature, cold injury, drought and salt stress. The fact that Ca^{2+} improves plant resistance to stresses is that the Ca^{2+} treated plants could maintain a high photosynthetic rate under stress condition. Light-induced Ca^{2+} influx into chloroplasts not only influences the cytosolic concentration of free Ca^{2+} but also regulates the enzymatic processes inside the chloroplast. Effects of Ca^{2+} on peanut plant growth and development, yield and reactive oxygen species (ROS) accumulation have been reported. However, the effects of different Ca^{2+} concentrations on peanut seedling growth, ROS accumulation and photoinhibition have not been studied in detail. In the present work, in order to investigate the effects of calcium on peanut

基金项目:山东省自然科学基金项目(ZR2009DZ007, ZR2011CQ042); 山东省自主创新成果转化重大专项(2012ZHZXIA0418-4); 现代农业产业技术体系建设专项资金资助(CARS-14)

收稿日期:2013-05-07; 网络出版日期:2014-04-17

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lixinguo@tom.com

seedling growth, Huayu 22 was used and cultured in modified Hoagland's solutions with 0, 6 and 12 mmol/L Ca^{2+} , respectively (abbreviated as CK, C6 and C12). After 20 d treatment, Ca^{2+} content in CK, C6 and C12 seedlings was measured. The results showed that Ca^{2+} content in roots and leaves of CK seedlings was the lowest and that in C12 seedlings was the highest. The results showed that Ca^{2+} promoted the growth and fresh weight accumulation of peanut seedlings. The root to shoot ratio was decreased when plants were grown in 6 and 12 mmol/L Ca^{2+} to compare with the control. Ca^{2+} improved the enzymatic activity in root and the accumulation of ROS in both leaves and roots was reduced under normal culture conditions. It seems that C12 seedlings were in a better physiological state than CK and C6. When functional leaves were exposed to high temperature ($42\text{ }^{\circ}\text{C}$) and high irradiance ($1200\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$), C6 and C12 leaves accumulated less hydrogen peroxide (H_2O_2) and superoxide anion radical (O_2^-), maintained higher maximal photochemical efficiency of photosystem II (PS II) (F_v/F_m) and lower $1-qP$ to compare with CK. Furthermore, C12 seedlings accumulated lower concentration of H_2O_2 and O_2^- and kept higher F_v/F_m than C6 seedlings. These results demonstrated that Ca^{2+} could alleviate photoinhibition and the accumulation of ROS under stress condition. In addition, compared with those of CK, the activities of some ROS scavenging enzymes [e.g. superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX) and catalase (CAT)] and the contents of some osmoregulation substances [e.g. proline (Pro), soluble sugar and ascorbate acid (AsA)] were significantly higher in C6 and C12 leaves, while the content of malonaldehyde (MDA) was significant lower in C6 and C12 leaves. Together, these results indicated that Ca^{2+} could protect peanut thylakoid membrane from damage directly or indirectly under stress condition by increasing activities of ROS scavenging enzymes and the contents of some osmoregulation substances.

Key Words: peanut; calcium; high temperature and high irradiance; photoinhibition; reactive oxygen species.

花生是我国重要的油料作物和经济作物,在油料作物中的种植面积仅次于油菜,居第二位。钙是植物生长必需的营养元素之一,大部分的钙被认为与膜和大分子有关^[1],也有大量证据表明它还参与植物不同的抗逆途径^[2]。花生是喜钙作物,缺钙容易引起花生荚果空秕,花生产量降低^[3]。我国北方6至9月份是花生荚果发育的重要时期,高温和强光往往会引起花生叶片光抑制,影响了花生光合产物的积累,进而影响荚果的发育,尤其是在其它环境胁迫条件(如干旱等)下,光合作用的光饱和点会明显降低,中午的强光高温更容易引起植物的光抑制,因此研究钙离子(Ca^{2+})参与花生抗高温强光的机制,对花生生产具有重要的理论指导意义。

高温强光可以直接抑制植物的生长,主要是因为高温强光下光合作用过程不能及时消耗吸收的光能,造成光能过剩,在这种情况下,越来越多的电子就会通过光合作用的电子传递链传递到分子 O_2 ,通过 Mehler 反应形成活性氧(ROS),包括过氧化氢(H_2O_2)、超氧阴离子(O_2^-)和羟基自由基($\cdot\text{OH}^-$)^[4],一定水平的 ROS 是植物正常生理过程所必需的。但是,极端温度等环境胁迫可以导致 ROS 的大量产生,如果 ROS 产生速率超过其降解速率,植物体内 ROS 产生和清除的动态平衡被打破,过量的 ROS 便会攻击蛋白质、核酸、脂类等生物大分子引起氧化损伤。为适应环境的变化,植物拥有不同的信号网络共同作用以形成适当的细胞反应。钙是真核生物中普遍存在的第二信使^[5-6]。有研究表明 Ca^{2+} 可以缓解胁迫条件下活性氧对光合机构的伤害,维持 PS II 的开放程度,保持较高的光合能力和 PS II 光化学转换能力^[7]。目前关于 Ca^{2+} 提高植物抗性大多归结于 Ca^{2+} 对细胞膜的保护作用^[2],过量外施 Ca^{2+} 处理的植株高大,茎枝粗壮,叶片厚且大,果量多,果大饱满,叶片叶绿素含量、活性氧清除酶活性较高,膜脂过氧化程度降低、ROS 积累减少,而低钙对花生生长发育的影响与植株体内活性氧防御系统受到破坏密切相关^[8]。不同 Ca^{2+} 浓度培养对花生幼苗的生长、ROS 积累和光抑制影响的研究鲜见报道。本研究以花生品种花育 22 试材,试图探讨不同 Ca^{2+} 浓度对花生幼苗的生长、叶片和根系中 ROS 积累及光抑制的影响,以及相关的保护机制。

1 材料与方法

1.1 材料与设计

以花生品种花育 22 为试验材料,首先挑选饱满均匀的花生种子在 30℃ 湿润的条件下催芽 1 d,然后挑选发芽一致的种子,播种于直径为 25 cm、高 15 cm 的花盆中,培养基质为用纯净水洗净的石英砂,每盆一株,每 9 个花盆置于一个托盘中,分别将改良的 Hoagland 营养液(Ca^{2+} 用 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 进行配置,并用 NH_4NO_3 平衡氮元素)浇于托盘中(试验过程中全部托盘大小一致),使水分从盆底部浸润石英砂。 Ca^{2+} 浓度分为 0 mmol/L (CK)、6 mmol/L (C6) 和 12 mmol/L (C12) 3 个处理,每个处理 3 次重复,各处理同时浇相应浓度营养液且用量相同以保持石英砂不干燥。培养室内光照强度为 $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$,昼/夜温度为 26℃/23℃,湿度 60%,光照/黑暗周期为 14 h/10 h。培养至 20 d 左右,每种处理均选取生长一致的花生幼苗为材料。

高温强光胁迫处理时,将倒三叶叶片悬浮于 42℃ 与培养溶液浓度一致的溶液上,上方罩有带有隔热水槽,对其进行强光处理,光照强度为 $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 。

8:00—9:00 进行样品取样,将植株按地上部、根、叶片等器官分开制备成待测样品。

1.2 测定方法

1.2.1 Ca^{2+} 含量的测定

选取植株的倒三叶和整个根系放在 105℃ 烘箱内烘干,然后转到 80℃ 烘箱内烘至恒重,用原子能吸收法测定根系和叶片中钙离子的含量,不同 Ca^{2+} 浓度处理植株的根和叶中, Ca^{2+} 含量均出现明显不同(表 1)。

1.2.2 叶绿素荧光测定

根据 Qin 等^[9]的方法用便携式荧光仪(FMS2, Hansatech, 英国)测定 PS II 最大光化学效率(F_v/F_m),处理之前材料暗适应 2 h 以上,每个处理选取 15 个叶片作为重复,胁迫过程中测定时暗适应 5 min 后进行测定。

$$F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$$

式中, F_o 为初始荧光, F_m 为最大荧光, F_v 为可变荧光。

光化学猝灭(qP)通过以下公式进行计算:

$$qP = (F_m' - F_s)/(F_m - F_o')$$

式中, F_m' 光适应条件下的最大荧光, F_s 是稳态荧光, F_o' 是光适应条件下的初始荧光^[9]。

1.2.3 脯氨酸(Pro)、可溶性糖、抗坏血酸(AsA)、丙二醛(MDA)、过氧化氢(H_2O_2)和超氧阴离子(O_2^-)含量的测定

根据 Thakur 和 Sharma^[10]的方法测定 Pro 含量,根据林颖等^[11]的方法测定可溶性糖含量,参照 Kampfenkel 等^[12]的方法测定 AsA 含量,参照 Qin 等^[9]的方法测定 MDA 含量,根据李新国等^[13]的方法测定 H_2O_2 和 O_2^- 含量。

1.2.4 酶活性的测定

总酶液的提取按 Cho 和 Park^[14]的方法。超氧化物歧化酶(SOD)酶活性的测定参见 Beyer 和 Fridovich^[15]的方法,过氧化氢酶(CAT)活性的测定参见 Aebi^[16]的方法,抗坏血酸过氧化物酶(APX)酶活性的测定参见 Nakano 和 Asada^[17]的方法。

1.3 数据处理与方法

采用 sigmaplot10.0 和 SPSS18.0 进行统计分析和做图,并进行方差分析。

表 1 不同 Ca^{2+} 浓度培养的花生植株中根系和叶片的 Ca^{2+} 含量

Table 1 The content of Ca^{2+} in peanut roots and leaves cultivated with different Ca^{2+} concentration

Ca^{2+} 浓度/(mmol/L) Ca^{2+} concentration	Ca^{2+} 在不同组织中的相对含量 / % Relative content of Ca^{2+} in different tissues	
	根 Root	叶 Leaf
0	1.01±0.02c	0.22±0.03c
6	1.27±0.02b	0.31±0.02b
12	1.35±0.03a	0.47±0.06a

数据为 3 次重复的平均值与标准方差,不同的小写字母表示在 0.05 水平上差异显著

2 结果与分析

2.1 Ca^{2+} 对花生幼苗生长的影响

不同 Ca^{2+} 浓度培养明显影响了花生幼苗的生长。CK 植株生长明显偏差(表 2), CK、C6 和 C12 的株高、植株鲜重、植株干重依次升高。C6 和 C12 的株高与 CK 相比均达极显著差异, 分别增加了 11.6% 和 18.7%, 但 C6 与 C12 的株高相比差异不显著; C6 和 C12 的植株鲜重分别比 CK 增加了 33.4% 和 58.7%, 达极显著差异, 根冠比分别降低了 2.9% 和 17.6%; C6 和 C12 的地上部干重和根系干重与 CK 相比均差异显著, 但 C6 和 C12 之间根系干重差异不显著。C6 的根冠比与 CK 无差异, 而 C12 的根冠比明显低于 CK, 达显著差异。

表 2 Ca^{2+} 对花生幼苗生长的影响

Table 2 Effects of Ca^{2+} on peanut seedlings' growth

Ca^{2+} 浓度 Ca ²⁺ concentration/ (mmol/L)	株高 Plant height /cm	植株鲜重 Plant fresh weight/g	根干重 Root dry weight/g	地上部干重 Cap dry weight/g	根冠比 The ratio of root to shoot	植株干重 Plant dry weight/g
0	14.97±1.03a	7.49±1.04a	0.27±0.01a	0.79±0.02a	0.34±0.03a	1.06±0.12a
6	16.70±0.70b	9.99±1.06b	0.35±0.02b	1.05±0.02b	0.33±0.02a	1.40±0.13b
12	17.77±1.16b	11.89±0.28c	0.34±0.01b	1.22±0.01c	0.28±0.02b	1.56±0.07c

数据为 3 次重复的平均值与标准方差, 不同的小写字母表示在 0.05 水平上差异显著

2.2 Ca^{2+} 对花生根系和叶片的 ROS 积累的影响

培养室环境条件下, 不同 Ca^{2+} 浓度对花生幼苗植株的根系活力影响显著, C6 和 C12 的根系活力分别比 CK 提高了 26.0% 和 90.4%, 同时二者根系 SOD 酶活性比 CK 分别提高了 31.2% 和 78.6% (图 1)。

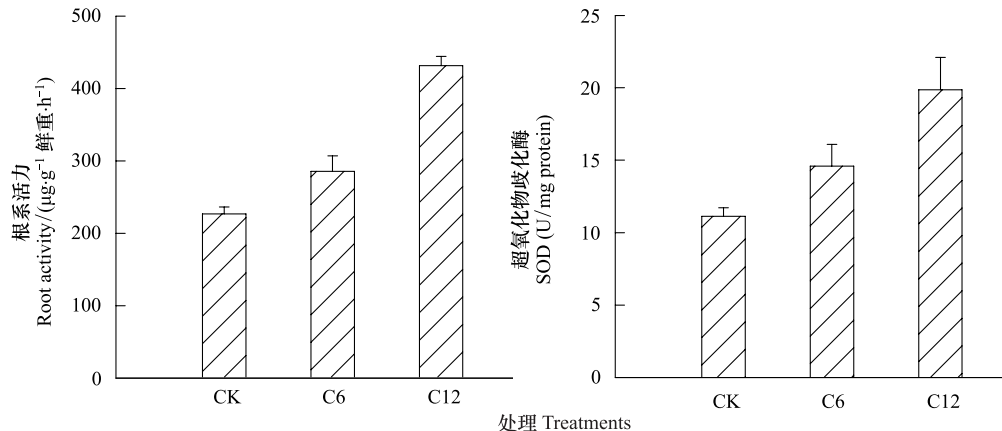


图 1 非胁迫条件下, 不同 Ca^{2+} 浓度培养的花生幼苗植株的根系活力和根系超氧化物歧化酶(SOD)酶活性

Fig.1 Effects of different Ca^{2+} concentrations on root activity and root Superoxide dismutase (SOD) activity of peanut seedlings under non-stress conditions

mean $\pm$ SD, $n=3$

不同 Ca^{2+} 浓度明显影响了花生幼苗植株的根系和叶片的 ROS 积累(图 2), CK 根系和叶片的 O_2^- 积累量明显高于 C6 和 C12; H_2O_2 积累情况与 O_2^- 具有相似的趋势, CK 根系和叶片的 H_2O_2 明显高于 C6 和 C12, 且 C12 的积累程度低于 C6(图 2)。

2.3 高温强光胁迫下 Ca^{2+} 对花生幼苗叶片的保护作用

2.3.1 Ca^{2+} 对花生叶片光抑制程度的影响

F_v/F_m 可以作为衡量 PS II 光抑制程度的指标。如图 3 所示, 高温 (42°C) 强光 ($1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 胁迫下, CK、C6 和 C12 叶片的 F_v/F_m 均明显下降, 三者的下降幅度分别为 30.0%、23.5% 和 23.1%。1-qP 反映

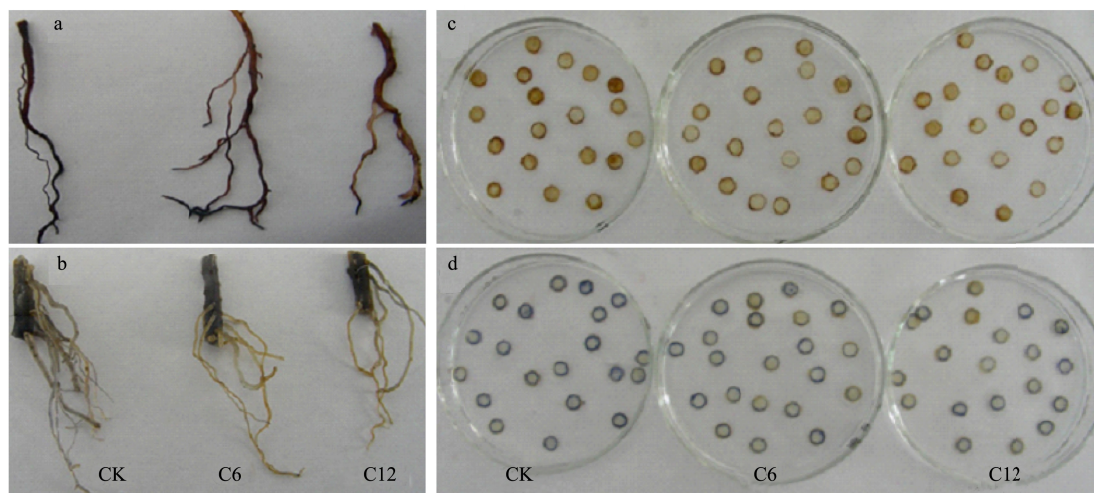


图2 非胁迫条件下,不同 Ca^{2+} 浓度培养的花生幼苗植株的根系和叶片的 ROS 积累情况

Fig.2 Effects of different Ca^{2+} concentrations on the accumulation of ROS in roots and leaves under non-stress conditions

a: 根系 DAB 染色; b: 根系 NBT 染色; c: 叶片 DAB 染色; d: 叶片 NBT 染色

PS II 反应中心的关闭程度和光化学反应能力, $1-qP$ 越高, 说明 PS II 反应中心的开放程度越低, 光化学反应能力下降。在整个高温强光胁迫过程中 C6 和 C12 叶片的 $1-qP$ 与 CK 相比始终处于较低水平 (图 3)。

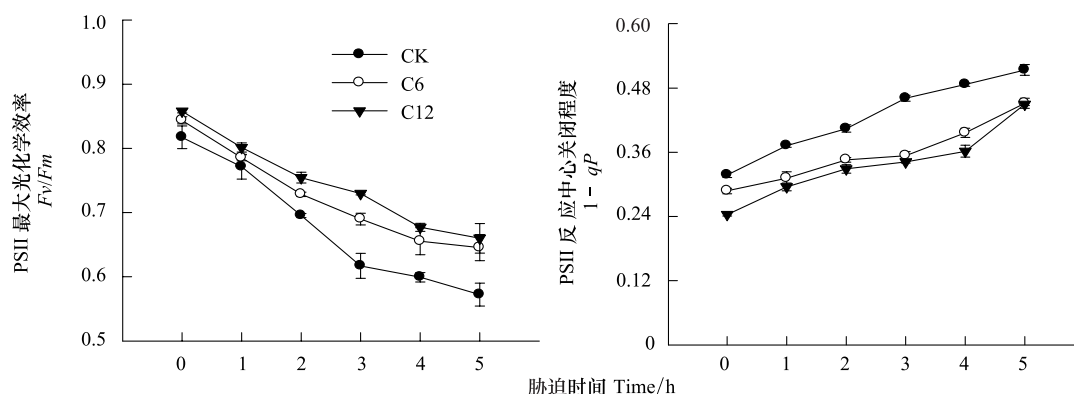


图3 高温 (42°C) 强光 ($1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 胁迫下, Ca^{2+} 对叶片的光抑制和 PS II 初级电子受体 (Q_A) 的还原程度的影响

Fig.3 Effects of Ca^{2+} on photoinhibition and Q_A reduction in peanut leaves under high temperature (42°C) and high irradiance ($1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

PS II (Photosystem II) 为光系统 II; F_v/F_m (Maximal photochemical efficiency of PS II) 为 PS II 最大光化学效率; qP (Photochemical quenching) 为光化学猝灭; $\text{mean} \pm \text{SD}$, $n=3$

2.3.2 Ca^{2+} 对花生叶片 ROS 积累及活性氧清除酶活性的影响

光合作用过程中, 光系统反应中心吸收的光能不能有效的利用或耗散掉, 过剩的能量会传递到氧形成活性氧, 其中 O_2^- 经 PS I 复合体直接产生, 并能由基质内的 SOD 歧化成 H_2O_2 和 O_2 , 而 H_2O_2 则可由 APX 还原为 H_2O [4]。高温强光胁迫下, 随着培养条件下 Ca^{2+} 浓度的升高, 叶片 O_2^- 和 H_2O_2 的含量明显降低, C6 和 C12 的 O_2^- 和 H_2O_2 含量都明显低于 CK, 在胁迫结束时, 二者的 O_2^- 含量分别比 CK 降低了 13.9% 和 21.8%, 而 H_2O_2 含量则分别比 CK 降低了 11.6% 和 21.9% (图 4)。

高温强光胁迫下, CK、C6 和 C12 叶片的活性氧清除酶活性均出现升高, C6 和 C12 的 SOD、APX 和 CAT 酶活性明显高于 CK (图 5), 胁迫 5 h 后, CK、C6 和 C12 的 SOD 酶活性分别为 116.57、129.57 U/g 鲜重和 129.63 U/g 鲜重, APX 酶活性分别为 22.60、27.00 $\Delta\text{A}290/\text{min g}$ 鲜重和 29.80 $\Delta\text{A}290/\text{min g}$ 鲜重, CAT 酶活性分别为 48.38、53.70 $\Delta\text{A}240/\text{min g}$ 鲜重和 55.80 $\Delta\text{A}240/\text{min g}$ 鲜重。这表明 Ca^{2+} 提高了花生幼苗植株中活性

氧清除酶活性。

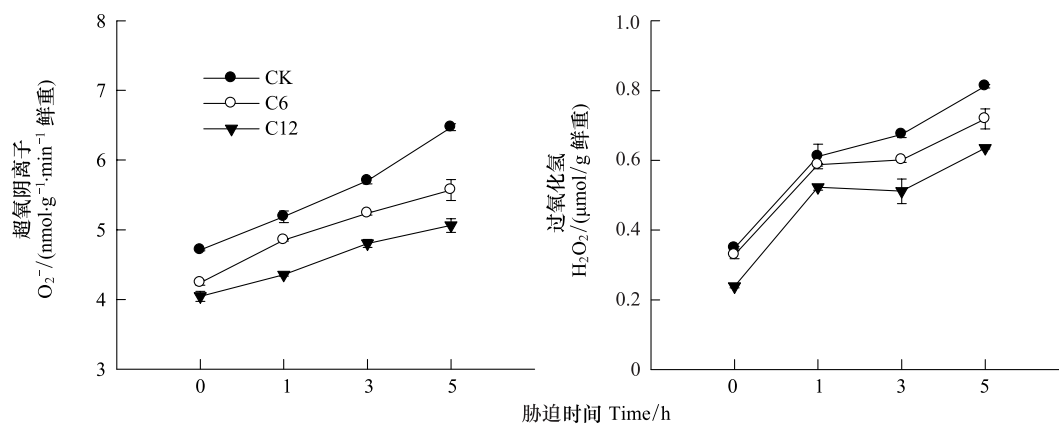


图4 高温(42℃)强光(1200 $\mu mol m^{-2} s^{-1}$)胁迫下, Ca^{2+} 对花生叶片中 $O_2^{\cdot -}$ 的产生速率与 H_2O_2 的含量的影响

Fig.4 Effects of Ca^{2+} on $O_2^{\cdot -}$ production rate and H_2O_2 content in peanut leaves under high temperature (42°C) and high irradiance (1200 $\mu mol m^{-2} s^{-1}$)
mean $\pm$ SD, $n=3$

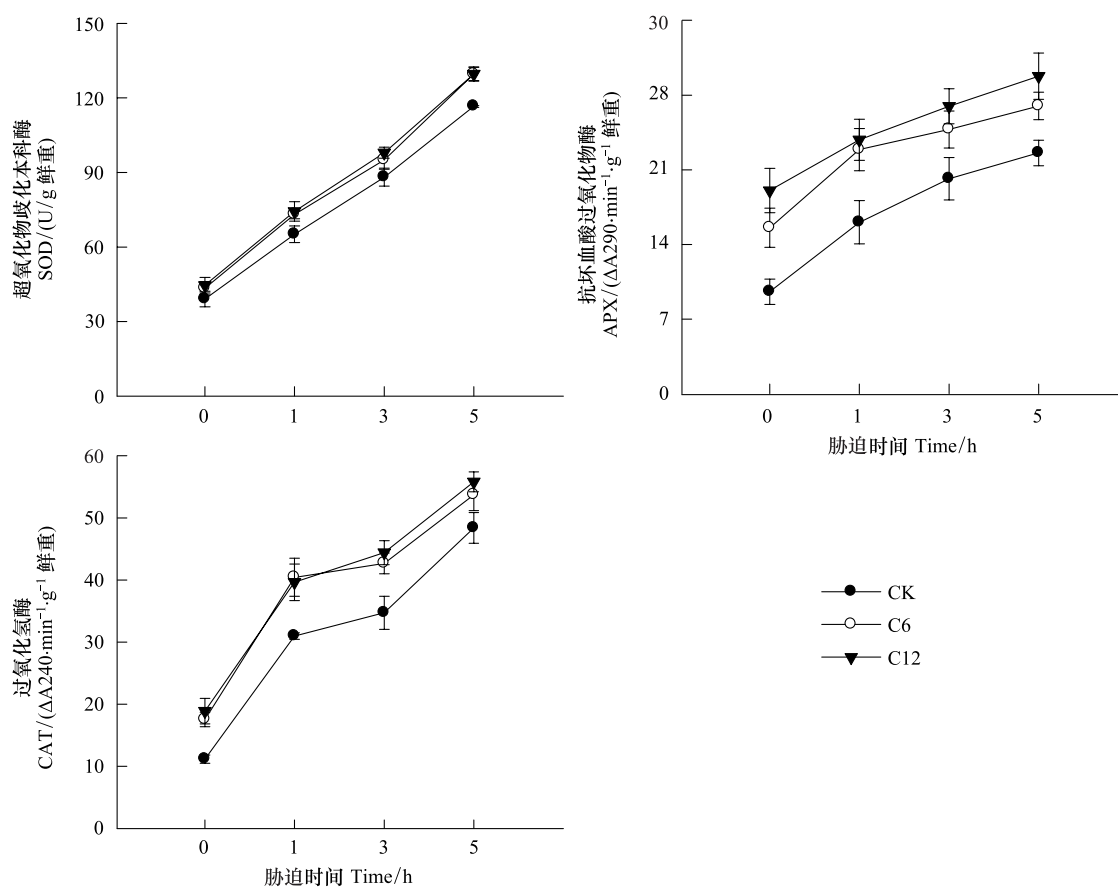


图5 高温(42℃)强光(1200 $\mu mol m^{-2} s^{-1}$)胁迫下, Ca^{2+} 对花生叶片中超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和过氧化物酶(CAT)酶活性的变化

Fig.5 Effects of Ca^{2+} on activity of superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX) and catalase (CAT) in peanut leaves under high temperature (42°C) and high irradiance (1200 $\mu mol m^{-2} s^{-1}$)
mean $\pm$ SD, $n=3$

2.3.3 Ca^{2+} 对叶片渗透调节物质的含量与膜脂过氧化的影响

随着处理时间的延长,保护性物质呈现逐渐增加的趋势(图6),高温胁迫后与胁迫前相比,CK、C6 和 C12 可溶性糖的含量分别增加了 25.80%、51.50%和 66.67%,Pro 含量分别增加了 262.93%、517.22%和 565.27%。这表明 Ca^{2+} 会促进高温强光胁迫下花生叶片渗透调节物质的积累。

花生叶片中 AsA 含量始终以 C12 最高,CK 最低,且在高温强光胁迫下,AsA 含量在 CK、C6 和 C12 幼苗叶片中均整体呈现增加趋势。正常培养条件下,C6 和 C12 的 AsA 含量分别比 CK 高 11.1%和 19.8%,胁迫后 C6 和 C12 的 AsA 含量则分别比 CK 高 8.8%和 10.3%,(图6)。表明 Ca^{2+} 有利于提高高温强光胁迫下 AsA 的含量。

MDA 是植物受到逆境胁迫时膜脂过氧化作用的最终产物,其含量的高低反映 ROS 对植物细胞膜伤害的程度。正常培养条件下,C6 和 C12 幼苗叶片的 MDA 含量明显低于 CK 叶片,而在高温强光胁迫后,CK、C6 和 C12 幼苗叶片的 MDA 含量均出现明显升高,但仍以 CK 的 MDA 含量最高,其次是 C6,C12 的最低(图6),表明高温强光胁迫下,花生 Ca^{2+} 对花生叶片膜系统起到了明显保护作用,而这种保护作用可能与叶片活性氧的有效清除有关(图4)。

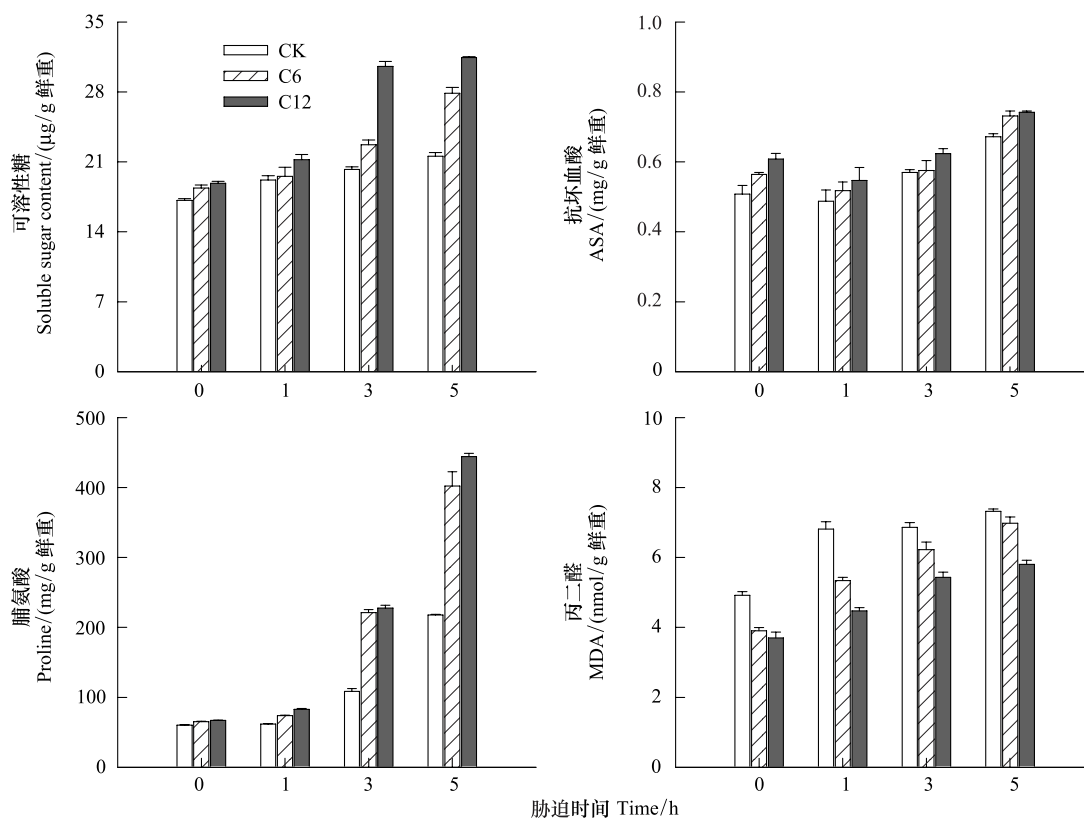


图6 高温(42℃)强光(1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)胁迫下, Ca^{2+} 对花生叶片中可溶性糖、脯氨酸(Pro)、抗坏血酸(AsA)和丙二醛(MDA)含量的变化

Fig.6 Effects of Ca^{2+} on the content of soluble sugar, proline (Pro), ascorbate acid (AsA) and malonaldehyde (MDA) in peanut leaves under high temperature (42℃) and high irradiance (1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

mean $\pm$ SD, $n=3$

3 讨论

Ca^{2+} 对植物生长的影响是多方面的,它参与植物大部分的代谢途径。施 Ca^{2+} 会明显促进花生幼苗的生长,花生植株长势明显增强,植株的干重和鲜重都明显增加,而且 12 mmol/L Ca^{2+} 浓度似乎对花生幼苗的生长

更有利(表 2)。

在本研究中, Ca^{2+} 促进花生幼苗生长原因与施 Ca^{2+} 抑制 ROS 的过量积累密切相关。ROS 是生物体维持正常生命活动所必须的,植物在进行呼吸作用和光合电子传递时体内也会产生 ROS,但是如果 ROS 产生与清除过程的平衡被打破,ROS 会大量积累,而 ROS 具有很高的氧化活性,会对植物体造成伤害^[18]。非胁迫条件下, Ca^{2+} 促进花生幼苗的生长与施 Ca^{2+} 提高了 ROS 的清除能力有关,根系和叶片 SOD 酶活性显著提高,有效地降低了活性氧积累所引起的伤害(图 2),从而使花生根系保持较高的活力(图 1)。

另外,即使在高温强光胁迫条件下,施 Ca^{2+} 也会抑制花生幼苗叶片 ROS 的积累(图 4,图 5)。逆境条件下,植物的光合作用光饱和点会明显降低,光能利用效率下降,造成光能过剩,从而使 PSI 和 PS II 的 ROS 产生加速。为避免光氧化胁迫,叶绿体通过多种酶促反应和抗氧化剂清除活性氧^[4]。ROS 的大量积累一方面会直接氧化破坏 PS II 而加重光抑制,另一方面通过抑制光破坏的 PS II 的修复而加速光抑制过程^[19]。前期的研究表明高温强光容易引起花生叶片的光抑制,且 PS II 反应中心的受体侧易受到影响,而对花生叶片光系统造成严重破坏的主要原因与能量耗散途径受抑有关^[20]。研究表明,高温强光胁迫下 Ca^{2+} 提高了花生叶片的 ROS 清除能力,对 PS II 反应中心起到了有效的保护作用,使 PS II 反应中心保持较大的开放程度,而且 12 mmol/L Ca^{2+} 浓度对花生幼苗叶片光化学活性的提高比 6 mmol/L Ca^{2+} 浓度更有效(图 3)。

除 ROS 清除系统外,植物还拥有多种低抗外界胁迫的保护机制,渗透调节就是其中的一个。Pro 和可溶性糖是植物体内重要的渗透调节物质,当植物受到环境胁迫时 Pro 和可溶性糖的含量增加可以提高植物的抗逆境能力。 Ca^{2+} 有效提高了花生幼苗的重要保护性物质可溶性糖、Pro 和 AsA 的含量(图 6),从而在一定程度上对生物膜起到了保护作用,降低了生物膜的膜脂过氧化水平(图 6)。AsA 既是叶黄素循环中 VDE 酶必不可少的底物^[21],也是植物组织中清除活性氧的重要物质^[4]。Xu 等^[21]的研究表明,外源 AsA 能够增强了叶黄素循环的运转,提高水稻叶片光合机构对低温和强光所诱导光抑制的抗性^[20],而 Ca^{2+} 很可能通过提高 AsA 的含量增强了叶黄素循环,促进了因高温强光引起的过剩能量的耗散。另外, Ca^{2+} 有效提高花生重要渗透调节物质的含量表明 Ca^{2+} 不但可以调控光合作用机构的稳定性和 ROS 清除酶活性,也能直接或间接调控渗透调节物质的合成。

Ca^{2+} 作为大量元素,其对植物体生长的影响主要集中于两个方面:一方面 Ca^{2+} 参与生物膜的形成并与膜的稳定性有关^[1]。本研究中采用的 6 mmol/L Ca^{2+} 浓度远高于 Hoagland 溶液的 4 mmol/L Ca^{2+} 浓度,6 mmol/L 浓度不会影响花生的正常生长,但在此浓度下花生生长和抗逆境的能力明显低于 12 mmol/L Ca^{2+} 浓度,这表明 Ca^{2+} 对花生幼苗生长的影响不仅仅局限于参与生物膜的形成和其稳定性方面;另一方面 Ca^{2+} 提高植物的适应能力主要是通过 Ca^{2+} 依赖的信号转导途径激活下游基因表达或者是激活一系列的生化反应来实现的^[2]。植物已知钙感受器/介质具有显著多样性和丰富性,包括许多所谓的 CaM-like 蛋白^[22],这些蛋白家族成员定位于过氧化物酶体和线粒体,叶绿体也拥有许多 CaM 的潜在靶位^[23]。已经表明植物的 CaM 可通过与过氧化物酶结合以提高该酶的氧化活性^[24]。因此, Ca^{2+} 依赖的信号转导途径可能是调控花生生长和抗逆性的一个重要途径,而 Ca^{2+} 信号转导途径是如何进行调控的需要研究。

参考文献(References):

- [1] Brand J J, Becker D W. Evidence for direct roles of calcium in photosynthesis. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 1984, 16(4): 239-249.
- [2] 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.
- [3] 周恩生,陈家驹,王飞,王煌平,陈惠成,何盈. 钙胁迫下花生荚果微区特征及植株生理生化反应变化. *福建农业学报*, 2008, 23(3): 318-321.
- [4] Asada K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiology*, 2006, 141(2): 391-396.
- [5] Clapham D E. Calcium signaling. *Cell*, 2007, 131(6): 1047-1058.
- [6] Dodd A N, Kudla J, Sanders D. The language of calcium signaling. *Annual Review of Plant Biology*, 2010, 61(1): 593-620.

- [7] Tan W, Meng Q W, Brestic M, Olsovska K, Yang X H. Photosynthesis is improved by exogenous calcium in heat-stressed tobacco plants. *Journal of Plant Physiology*, 2011, 168(17): 2063-2071.
- [8] 张海平, 单世华, 蔡来龙, 官德义, 李毓, 庄伟建. 钙对花生植株生长和叶片活性氧防御系统的影响. *中国油料作物学报*, 2004, 26(3): 33-36.
- [9] Qin L Q, Li L, Bi C, Zhang Y L, Wan S B, Meng J J, Meng Q W, Li X G. Damaging mechanisms of chilling- and salt stress to *Arachis hypogaea* L. leaves. *Photosynthetica*, 2011, 49(1): 37-42.
- [10] Thakur M, Sharma A D. Salt-stress-induced proline accumulation in germinating embryos: Evidence suggesting a role of proline in seed germination. *Journal of Arid Environments*, 2005, 62(3): 517-523.
- [11] 林颖, 吴毓敏, 吴雯, 田庚元. 天然产物中的糖含量测定方法正确性的研究. *天然产物研究与开发*, 1996, 8(3): 5-9.
- [12] Kampfenkel K, Van Montagu M, Inzé D. Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue. *Analytical Biochemistry*, 1995, 225(1): 165-167.
- [13] 李新国, 毕玉平, 赵世杰, 孟庆伟, 何启伟, 邹琦. 短时低温胁迫对甜椒叶绿体超微结构和光系统的影响. *中国农业科学*, 2005, 38(6): 1226-1231.
- [14] Cho U H, Park J O. Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings. *Plant Science*, 2000, 156(1): 1-9.
- [15] Beyer W F Jr, Fridovich I. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry*, 1987, 161(2): 559-566.
- [16] Aebi H. Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology*, 1984, 105: 121-126.
- [17] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 1981, 22(5): 867-880.
- [18] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 2002, 7(9): 405-410.
- [19] Nishiyama Y, Allakhverdiev S I, Murata N. A new paradigm for the action of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 2006, 1757(7): 742-749.
- [20] 秦立琴, 张悦丽, 郭峰, 万书波, 孟庆伟, 李新国. 强光下高温与干旱胁迫对花生光系统的伤害机制. *生态学报*, 2011, 31(7): 1835-1843.
- [21] Xu C C, Lin R C, Li L B, Kuang T Y. Increase in resistance to low temperature photoinhibition following ascorbate feeding is attributable to an enhanced xanthophyll cycle activity in rice (*Oryza sativa* L.) leaves. *Photosynthetica*, 2000, 38(2): 221-226.
- [22] Bussemer J, Vothknecht U C, Chigri F. Calcium regulation in endosymbiotic organelles of plants. *Plant Signaling & Behavior*, 2009, 4(9): 805-808.
- [23] Chigri F, Flösdorff S, Pilz S, Kölle E, Dolze E, Gietl C, Vothknecht U C. The *Arabidopsis* calmodulin-like proteins AtCML30 and AtCML3 are targeted to mitochondria and peroxisomes, respectively. *Plant Molecular Biology*, 2012, 78(3): 211-222.
- [24] Yang T, Poovaiah B W. Hydrogen peroxide homeostasis: Activation of plant catalase by calcium/calmodulin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 2002, 99(6): 4097-4102.