

DOI: 10.5846/stxb201312172966

周瑞莲, 赵彦宏, 杨润亚, 左进城, 侯月立, 周彬彬. 海滨滨麦叶片和根对不同厚度沙埋生理响应差异分析. 生态学报, 2015, 35(21): - .

Zhou R L, Zhao Y H, Yang R Y, Zuo J C, Hou Y L, Zhou B B. Analysis of the different physical responses of *Leymus mollis* (Trin.) Hara leaves and roots to sand burial on the coast of Yantai, China. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(21): - .

海滨滨麦叶片和根对不同厚度沙埋生理响应差异分析

周瑞莲*, 赵彦宏, 杨润亚, 左进城, 侯月立, 周彬彬

鲁东大学生命科学学院, 烟台 264025

摘要:以烟台海岸抗风沙植物滨麦为研究材料,通过对不同厚度沙埋下其叶片和根部抗氧化酶活力(超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT))、丙二醛(MDA)含量和渗透调节物含量变化,探讨了叶片和根部对沙埋生理响应的差异。试验按滨麦成株株高(约40 cm)对其进行了轻度沙埋(在株高1/4处)、中度沙埋(2/4处)和重度沙埋(3/4处)。在沙埋第6天,分别测定了不同厚度沙埋处理下,植株各段叶片和根抗氧化酶活力、MDA和渗透调节物含量。结果表明,轻度和中度沙埋均加速植株生长,其株高较对照高并与之差异显著($P < 0.05$)。与对照相比,经轻度、中度沙埋处理6 d,叶片平均MDA含量增加,在重度沙埋下降低。不同厚度沙埋6 d叶片平均SOD活力和脯氨酸含量增加,而CAT活力、可溶性糖和可溶性蛋白质含量下降。但不同厚度沙埋均使沙上叶片MDA、脯氨酸、可溶性蛋白质含量和SOD和CAT活力增加,尤其是叶片顶部增加最为明显,使沙下叶片MDA、可溶性糖、可溶性蛋白质含量和CAT活力下降,导致同株沙上和沙下叶片MDA、脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白质含量和SOD和CAT活力差异显著($P < 0.05$)。与叶片相比,根中MDA、可溶性蛋白质含量和SOD和CAT活力较低,而POD活力和可溶性糖含量较高并与叶片差异显著($P < 0.05$)。不同厚度沙埋6 d,滨麦根中MDA和可溶性蛋白质含量变化较小,可溶性糖含量和CAT、POD、SOD活力略有降低。研究表明,滨麦根和叶片对不同厚度沙埋的生理响应不同。沙埋直接作用于叶片并诱发叶内氧自由基积累,但叶片通过快速激活的抗氧化酶保护系统(CAT、SOD)维持氧自由基代谢平衡,以及渗透调节物(脯氨酸、可溶性糖)积累维护细胞水分代谢平衡,并满足能力的需求和快速生长。但在不同厚度沙埋下,由于根系不受沙埋直接影响而生理变化较小,并且还维持较低的膜脂过氧化水平,这可能是根能维持正常的吸水输水功能并在沙埋处理过程中和沙埋后地上叶片快速生长摆脱沙埋的重要物质基础。

关键词:滨麦, 海滨, 叶片和根, 沙埋, 生理响应

Analysis of the different physical responses of *Leymus mollis* (Trin.) Hara leaves and roots to sand burial on the coast of Yantai, China

ZHOU Ruilian*, ZHAO Yanhong, YANG Ruiya, ZUO Jincheng, HOU Yueli, ZHOU Binbin

School of Life Science, Ludong University, Yantai 264025, China

Abstract: In this study, we tested the physiological responses of *Leymus mollis* (Trin.) leaves and roots to sand burial on the Yantai coast of China to understand the biochemical and physiological adaptive mechanisms of this species to sand burial. Based on the height of *L. mollis* (about 40 cm) four levels of sand burial treatments were set up: no-sand burial (control), light sand burial (1/4 plant height), moderate sand burial (1/2 plant height), and severe sand burial (3/4 plant height). After 6 days of sand burial, samples were taken from the leaves and roots of plants in each treatment. Changes in malonaldehyde (MDA) content, an osmotic regulator, in addition to antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), and catalase (CAT) activity, were measured in the leaves above and below the sand and in the roots at various depths. Plants under light and moderate sand-burial grew fast until they protruded from the sand,

基金项目:烟台市科技局资助课题(2013ZH351);国家973课题(2009CB421303);国家自然科学基金项目(30972422)

收稿日期:2013-12-17; **网络出版日期:**2015-04-14

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhourl726@163.com

becoming taller than control plants after 6 days. Compared to the control, the average MDA content increased in whole leaves under light and moderate sand burial, but and decreased in leaves subject to severe sand burial. In all three sand burial treatments, SOD activity and proline content increased in whole leaves, whereas CAT activity and soluble sugar and soluble protein contents decreased. In all three burial treatments, MDA, proline, and soluble protein content increased in leaves above the sand, along with SOD and CAT activity, especially in the top section of the leaves. In contrast, MDA, soluble sugar, and soluble protein content, in addition to CAT activity, decreased in the leaves beneath the sand. This resulted in significant differences in MDA, proline, soluble sugar, and soluble protein content, in addition to SOD and CAT activity, between leaves above and below the sand ($P < 0.05$). Compared to above ground leaves, underground roots had lower MDA and soluble protein content, in addition to lower SOD and CAT activity, but higher POD activity and soluble sugar content. After 6 days of sand burial, there was a small change in MDA and soluble sugar content, with soluble sugar content and CAT, POD, and SOD content slightly decreasing in the roots. On the same plant, leaves above ground had significantly higher ($P < 0.05$) MDA and soluble protein content, along with higher CAT and SOD activity, than the underground roots. This result indicates that sand burial had a greater effect on the aboveground structures (branches and leaves) above ground compared to the underground structures. Sand-burial caused the accumulation of oxygen free radicals in the cells, which induced lipid peroxidation and activated the antioxidant enzymatic protection system to scavenge oxygen free radicals and maintain the metabolic balance of oxygen free radicals. This action also promoted osmotic adjustments to maintain the balance of water metabolism and provide energy and nutrition. Thus, under sand burial, it may be important to enhance cell antioxidant and osmotic adjustment capacity rapidly to maintain the balance of oxygen free radical metabolism and metabolic water balance, a key physiological regulation strategy for *L. mollis* for sand burial adaptation. Moreover, the root system was not affected by the different levels of sand burial, and continued to sustain lower levels of lipid peroxidation, allowing the roots to maintain normal functions of water suction and transportation, and to support the fast growth of leaves out of the sand.

Key Words: *Leymus mollis*; coast; leave and root; sand burial; physiological response

生于河岸沙地的滨麦 (*Leymus mollis* (Trin.) Hara) 具有强大的根系是水土保持和固沙植物, 在防沙固沙和生态小环境的改善中发挥着不可替代的作用^[1]。同时, 由于滨麦是大麦亚族赖草属 (*Leymus*), 具有抗病、耐盐碱性, 是小麦遗传改良中具有重要利用价值的野生亲缘物种之一^[1-4]。为了将滨麦的抗性性状应用在育种上, 人们研究了滨麦渗透胁迫响应基因^[5]、基因结构特征^[6]、抗条锈病基因的定位^[7], 但对滨麦抗风沙生存机理鲜有报道。海岸风大浪高, 但滨麦却能在近海岸迎风坡地旺盛生长并形成单一种群群落, 揭示滨麦抗沙埋生理机理, 不仅可丰富植物抗风沙理论, 而且对开发其抗风沙基因具有重要理论指导作用。

目前已将“氧自由基理论”引入到沙生植物抗逆生理机理的研究^[8-10]。研究发现在干旱和盐胁迫过程中植物体内会产生活性氧自由基^[11-19]。而细胞内积累的活性氧自由基可破坏活性氧代谢平衡, 引起细胞膜脂过氧化, 使细胞膜结构和蛋白质核酸受损, 导致细胞生理代谢紊乱并死亡^[14-15]。但同时研究还发现在盐胁迫^[16, 19]、冷冻^[17-18]、干旱^[11, 15]胁迫条件下, 植物抗氧化酶保护系统被激活, 抗氧化酶 (SOD, CAT, POD) 活力增高清除活性氧自由基, 抑制膜脂过氧化, 保护细胞膜完整性。同时, 植物细胞中渗透调节物 (可溶性糖和脯氨酸) 含量会快速增高参与渗透调解, 维护细胞水分平衡^[19-20]。因此, 人们普遍认为胁迫条件下植物体内抗氧化保护酶活力的高低和渗透调节物含量的多少与植物抗逆性强弱密切相关^[17-18, 21]。而对海岸砂引草 (*Messerschmidia sibirica* Linn)^[22] 和单叶蔓荆 (*Vitex rifolia* var. *Simplicifolia*)^[23] 在不同厚度沙埋处理过程中抗氧化酶活力和可溶性糖和脯氨酸含量分析也发现: 轻度和中度沙埋下, 成株和幼株整株叶片平均细胞膜透性增大、POD 和 SOD 活力增高、MDA 和脯氨酸含量和叶片相对含水量增加, 同时植株沙上叶片细胞膜透性、MDA 含量、SOD 和 POD 活力和叶片可溶性糖均高于沙下, 沙埋后抗氧化酶活力和渗透调节物含量的增高与

抑制膜脂过氧化和沙埋后快速恢复生长相关。虽然对海岸紫草科砂引草^[22]和马鞭草科的单叶蔓荆(*Vitex rifolia* var. *Simplicifolia*)^[23]抗沙埋生理机理做了研究,由于植物种类差异会导致参与渗透调节的渗透调节物种类和参与氧自由基清除的酶类不同^[24]。加之,不同科属生物学特性差异,如叶片形态、生活型不同,均会导致它们抗逆生理调控机理的不同^[25]。因此滨麦为何能在迎风沙地上生存及其生理调控的机理是什么?沙埋除了威胁受沙埋的叶生长外,对根系代谢是否有影响?叶和根系抗沙埋是否有抗氧化酶和渗透调节物参与并与其维持氧自由基代谢和水分平衡有关?目前报道较少。

本文以烟台海岸沙地天然滨麦为材料,通过在不同厚度沙埋下叶片和不同深层土壤中根系抗氧化酶活力、渗透调节物和生长速率分析,以探讨滨麦抗沙埋生理调控机制以及根叶对沙埋的生理响应差异,并揭示海岸沙生植物在极端环境下生存机制,为未来植物抗沙埋基因的深入研究提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 研究时间和试验地点

试验于 2011 和 2012 年 5 月到 8 月在烟台市西泊子海岸沙地天然滨麦生长地进行。烟台市地处山东半岛中部,位于东经 119°34'—121°57',北纬 36°16'—38°23'。该地区属于温带季风气候,年平均降水量为 651.9 mm,主要集中在 7—8 月,占年降雨量的 49%;年平均气温 11.8℃,最热月为 8 月(24.6℃),历年极端最高气温 38.4℃,土壤 pH 值为 4.2—6.8。海岸沙地土壤多为风沙土。年平均风速内陆地区 3—4 m/s,沿海地区 4—6 m/s。西泊子研究区天然群落以耐沙埋植物为主,主要有筛草(*Carex kobomugi*)、砂引草(*Messerschmidia sibirica* Linn)、肾叶打碗花(*Calystegia soldanella* (L.) R. Br)和滨麦(*Leymus mollis* (Trin.) Hara)等。

1.2 试验处理

试验地标记:在西泊子近海滨沙地上选择生长密集均匀的滨麦地块为样地,并除去杂草,将样地插牌作标记。

试验材料标记:从标记的样地中挑选株高约 40 cm 的植株(成株)用于沙埋,并将其标

记。即:在沙埋前,用记号笔将植株基部做标记,同时测量植株基部到顶部的距离(植株高度),然后进行沙埋。

沙埋处理:根据成株高度(约 40 cm),将植株分为 4 段。从植株基部(地面部位,记为 0)到顶部依次分为,1/4 段(0—1/4,基部),2/4 段(1/4—2/4,中部 2),3/4 段(2/4—3/4,中部 1),4/4 段(3/4—4/4,顶部)。沙埋处理设立:对照;轻度沙埋(埋至株高 1/4 段处);中度沙埋(2/4 段处);重度沙埋(3/4 段处)。方法是纸盒子分别剪制成高 30 cm(重度沙埋)、20 cm(中度沙埋)、10 cm(轻度沙埋)围成面积约为 1—2 m² 平方米的方框。按沙埋厚度选取方框将所选植株框起,然后收集远处地表干沙往框内外覆沙至框高,同时一边覆沙,一边尽量将叶片向上擡直。沙埋后将方框去除,沙埋区域周围再补充少量沙与地面成斜坡状与自然沙地成一体。每个沙埋处理至少包括 15 株标记的植物,每个处理重复 3 次,整个沙埋试验重复 2 次,两次结果类似,在此仅报道其中 1 次。

1.3 取样方法

在沙埋的第 6 天,对沙埋处理的植株进行取样。同一植株取样的顺序为:(1)沙上取样:首先用剪刀将不同处理的植株沙上叶片剪下,并按沙埋前分段的方法将各段剪开,其中对照植株具有完整的 4 段,重度沙埋仅具顶部那段,取样后即刻用纱布包裹液氮固定。(2)沙下取样:小心用手将不同厚度沙埋处理的沙下叶片周围沙子拨出,直到植株基部标记部分露出,用剪刀从标记处将叶片的剩余部分剪下,同样将沙下植株各段剪开,用纱布包裹后用液氮固定。(3)地下根取样:由于滨麦具有地下根茎,并分布在较深的土层中,故本研究仅从浅层土中取根系,不包括根茎。具体做法是,取完叶片后,接着用手小心将根挖出,取根长约 20 cm,并将根从 10 cm 和 20 cm 处剪开,将 0—10 cm 记为根(1),10—20 cm 记为根(2)。清除根上沙子后,用液氮固定。所有液氮固定的材料用于渗透调节物质(脯氨酸、可溶性糖含量)、保护酶(SOD、POD、CAT)活力、MDA

含量的分析,所有生理测定至少重复 6 次。

1.4 试验方法

生长速率测定:在沙埋第 6 天、第 12 天,小心将叶片周围沙子拨除直到植株基部标记露出,用量尺测量植株基部标记处到叶尖距离(株高),测量结束后再用沙子埋到沙埋处理的高度。

丙二醛(MDA)含量的测定:采用硫代巴比妥酸法测定 MDA 含量^[26]。

酶液提取:酶液提取是在 4℃ 条件下进行的,准确称取液氮固定的样叶于预冷研钵中,加入酶提取液(pH 值=7.8 磷酸缓冲液),冰浴上研磨成匀浆,在 15000 r/min 4℃ 条件下离心 15 min,上清液用于抗氧化酶活力和脯氨酸、可溶性糖和丙二醛含量的测定。

抗氧化酶活性的测定:采用愈创木酚法测定 POD 活性^[26];采用氮蓝四唑(NBT)光还原法测定 SOD 活性^[12];采用过氧化氢—碘量法测定 CAT 活性^[27]。

渗透调节物质含量的测定:采用茚三酮比色法测定游离脯氨酸含量^[26];采用恩酮法测可溶性糖含量^[26]。由于沙埋 6 天叶片生长最快,故本实验仅测定了沙埋 6 天不同厚度沙埋植株各部位叶片的抗逆生理指标的变化。

1.5 数据处理

实验数据采用 3 个以上重复的平均值±标准误(Standard Error),用 SPSS 11.5 软件进行数据分析。不同沙埋处理间采用方差分析,并以 Duncan 法进行多重比较,沙上与沙下叶片间的比较用 T 检验。

2 结果与分析

2.1 不同厚度沙埋对滨麦叶片生长速率影响

结果表明,在轻度和中度沙埋下,滨麦植株生长明显加快($P < 0.05$),而重度沙埋下植株高度与对照差异不显著(图 1)。与对照相比,轻度和中度沙埋 6 d 使植株叶片总长度对照长 16 %和 27 %,重度沙埋叶片增长较少,沙下叶片部分发黄;轻度和中度沙埋 12 d 使植株叶片总长度较对照长 18 %和 31 %,重度沙埋叶片增长较少。说明适度沙埋可加速滨麦生长。

2.2 不同厚度沙埋对滨麦叶片和根膜脂过氧化影响

许多研究发现,逆境条件下,细胞 MDA 含量与植物存活和抗逆性成负相关^[28]。由于抗氧化酶活力变化在种间和基因型间存在明显差异^[28]。因此,测定 MDA 含量已成为筛选植物抗逆品种的一个工具^[24, 28]。也是检测植物膜伤害的一个重要指标^[11]。

与对照相比,轻度、中度沙埋 6d 使叶片平均 MDA 含量增加,重度沙埋使叶片平均 MDA 下降(图 2)。尤

其是沙埋使叶片顶部 MDA 增加最为明显,轻度、中度、重度沙埋使叶片顶部 MDA 含量分别较对照增加 41 %、60 %和 21 %,与对照差异显著($P < 0.05$)。不同沙埋处理下根中 MDA 含量变化不明显,并与对照差异不明显。与叶片相比,根中膜脂过氧化程度较低,且两者差异显著($P < 0.05$)。而沙埋使同株沙上和沙下叶片 MDA 含量差异显著($P < 0.05$),经轻度、中度、重度沙埋 6d,沙上叶片 MDA 含量分别较沙下高 52 %、58 %、66 %。表明,沙埋明显促使叶片,尤其是叶片顶部膜脂过氧化加强和 MDA 积累。该研究与我们对砂引草^[22]和单叶蔓荆^[23]研究结果一致。

2.3 不同厚度沙埋对滨麦叶片和根抗氧化酶活力影响

正常情况下植株叶片各部位 CAT 活力表现为叶片顶部和中部略高,基部略低,根部 CAT 活力最低(对

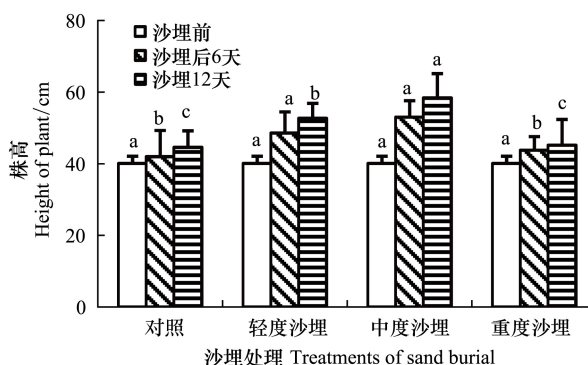


图 1 不同厚度沙埋 6 d 和 12 d 滨麦植株高度对比

Fig 1 Comparison of plant height of *Leymus mollis* under different depth of sand burial after 6 days and 12 days

注:(1) C-对照, LSB-轻度沙埋, MSB-中度沙埋, SSB-重度沙埋,下同

(2)同一处理天数,不同沙埋处理间比较用字母标记,两两间有相同字母表示差异不显著,反之差异显著($P < 0.05$)

照)(图 3A)。沙埋 6d, 随沙埋厚度增加滨麦沙上叶片 CAT 活力趋于增加, 沙下叶片 CAT 活力下降, 尤其是叶片顶部 CAT 活力提高幅度较大(图 3A)。与对照相比, 轻度、中度和重度沙埋下, 叶片顶部 CAT 活力分别增加 11 %、25 % 和 24 %, 并与对照差异显著($P < 0.01$)。同时也导致同株沙上和沙下叶片 CAT 活力差异极显著($P < 0.01$)。轻度、中度和重度沙埋下沙上比沙下叶片 CAT 活力分别高 109 %、126 %、和 80 %。不同厚度沙埋 6 d 根中 CAT 活力变化不明显且与对照无显著差异, 导致叶平均 CAT 活力较根部高 2—3 倍, 两者差异显著($P < 0.05$)。结果表明, 沙埋对叶片影响大, 而对根没有明显影响。

正常情况下, 滨麦叶片各部位 SOD 活力均较高, 根 SOD 活力较低(图 3B)。不同厚度沙埋 6 d 使叶片平均 SOD 活力略有增高(但叶片顶部 SOD 活力增加更为明显), 深根部位 SOD 活力下降(图 3B)。不同厚度沙埋 6 d, 与对照相比, 轻度、中度、重度沙埋下叶片顶部 SOD 活力分别增加 11 %、27 % 和 19 %, 深根部位(根 2)

SOD 分别下降 19 %、27 %、42 %, 均与对照差异显著($P < 0.05$)。同时, 同株沙上叶片 SOD 活力较沙下高, 例如, 轻度、中度和重度沙埋下沙上叶片 SOD 活力较沙下分别增加 13 %、29 % 和 18 %。且差异显著($P < 0.05$)。

与根系和叶片 SOD 和 CAT 活力结果不同的是, 滨麦根 POD 活力明显高于叶片, 对照根中 POD 活力较叶高 190 %(图 3C)。但在轻度和中度沙埋 6d, 根 POD 活力较对照下降 26 % 和 36 %, 与对照差异明显($P < 0.05$)。同株沙上和沙下叶片 POD 活力差异不显著, 而且叶片顶部 POD 活力变化较小与对照差异也不显著, 但叶片和根中 POD 活力差异显著($P < 0.05$)。

2.4 不同厚度沙埋对滨麦叶片和根渗透调节物含量的影响

对照滨麦叶片可溶性蛋白质含量在叶片顶部最高, 基部较低, 根部最低, 叶片可溶性蛋白质含量是根的 2.3 倍(对照)(图 4A)。与对照相比, 虽然不同厚度沙埋并未提高叶片平均可溶性蛋白质含量, 但不同厚度沙埋却使沙上叶片可溶性蛋白质含量上升(尤其是叶片顶部), 使沙下叶片可溶性蛋白质降低, 导致沙上和沙下叶片可溶性蛋白质含量差异加大, 并差异显著($P < 0.05$)。另外, 不同厚度沙埋下滨麦根可溶性蛋白含量低、变化小, 与同株叶片可溶性蛋白质含量差异显著($P < 0.05$)。

对照叶片顶部脯氨酸含量较高, 其余部位脯氨酸含量较低且差异不显著但与顶部差异显著($P < 0.05$), 根部脯氨酸含量最高(图 4B)。沙埋使根叶脯氨酸含量均增加。随沙埋厚度增加叶片脯氨酸含量增幅加大, 在轻度、中度、重度沙埋处理下叶片平均脯氨酸含量分别较对照增加 38 %、81 % 和 206 %, 中度和重度沙埋下根中脯氨酸平均含量增加 30 % 和 137 %, 它们均与对照差异显著($P < 0.05$)。同株沙上和沙下叶片脯氨酸含量差异显著($P < 0.05$)。中度、重度沙埋使沙上叶片脯氨酸含量分别较沙下高 66 % 和 28 %。

对照滨麦根部可溶性糖含量较叶片高, 且差异显著($P < 0.05$)。沙埋 6 d 使沙上叶片可溶性糖含量略有增加, 但却使沙下叶片可溶性糖含量大幅下降, 轻度、中度和重度沙埋 6 d, 沙下叶片可溶性糖含量分别较对照下降 31 %、53 %、61 %, 致使沙上和沙下差异达到显著($P < 0.05$)。

3 讨论

沙埋是控制沙地生态系统中植被分布和组成的重要因素, 具有耐沙埋特性也是植物能在流动或半流动沙

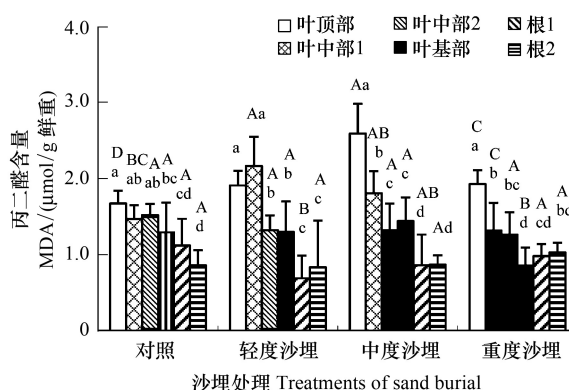


图 2 不同厚度沙埋下滨麦叶片和根系丙二醛含量的变化

Fig 2 Changes in the MDA contents of the leaves and roots of *Leymus mollis* under different depth of sand burial

注: (1) 图中每一处理组从左到右依次为: ①叶顶部; ②叶中部 2; ③叶中部 1; ④叶基部; ⑤根 1; ⑥根 2。白色表示该部位没有被沙埋; 黑色表示该部位被沙埋

(2) 同一部位不同厚度沙埋之间的比较用大写字母表示, 字母不同表示差异显著($P < 0.05$); 同一植株不同部位之间的比较用小写字母表示, 字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。下同

(3) 沙上与沙下叶片间的比较用 T 检验。下同

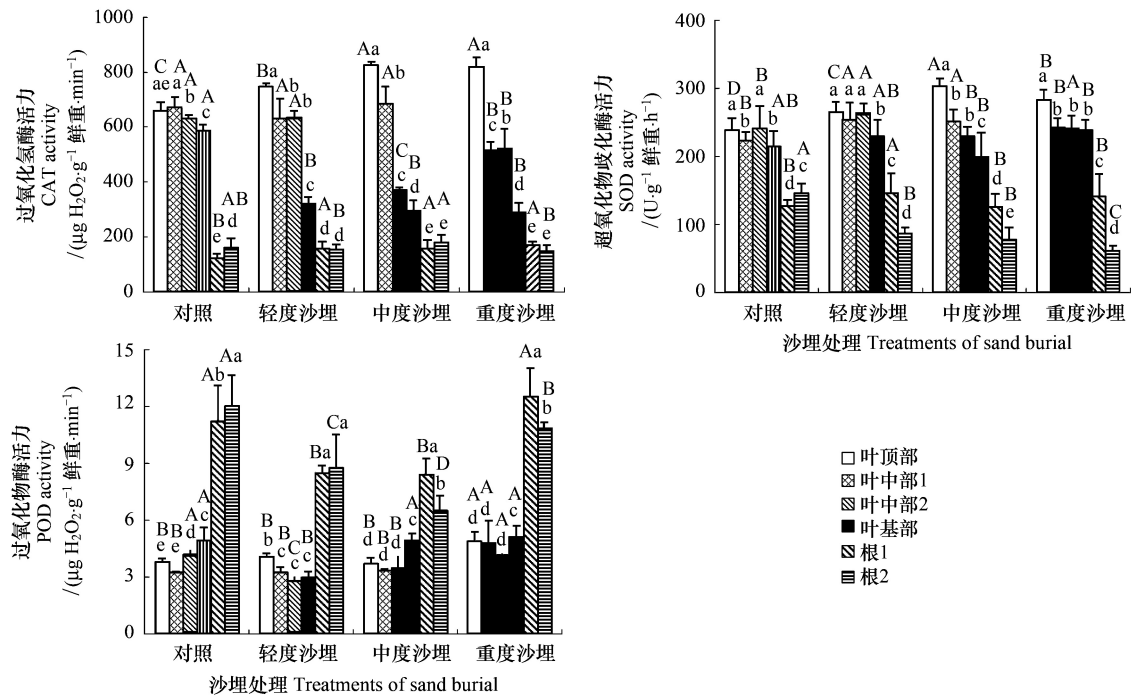


图3 不同厚度沙埋下滨麦叶片根系 CAT (A)、SOD (B)、POD (C) 活力的变化

Fig 3 Changes of the activities of CAT (A)、SOD (B)、POD (C) in the leaves and roots of *Leymus mollis* under different depth of sand burial

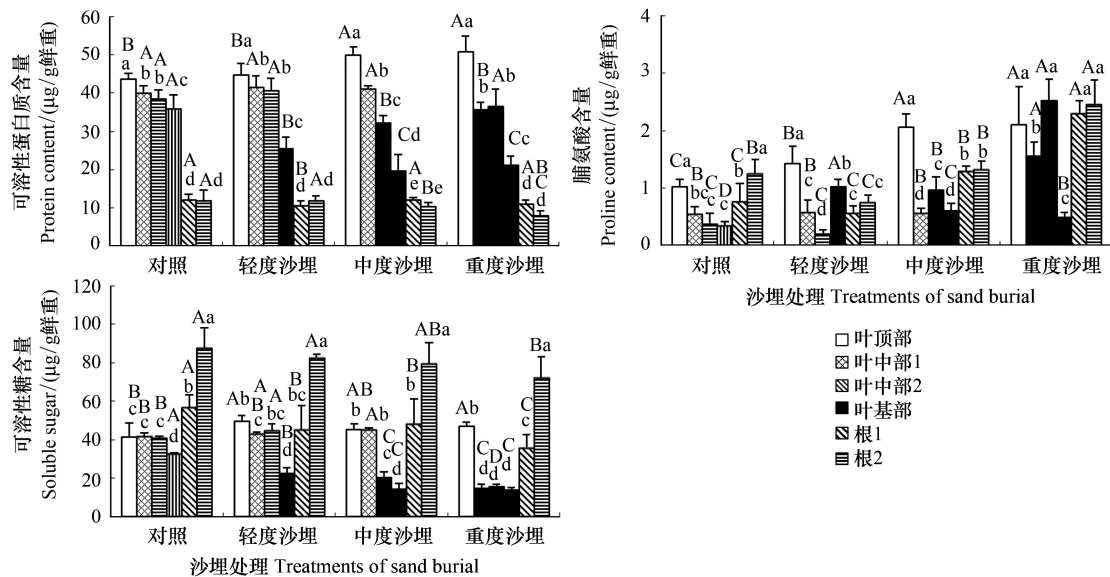


图4 不同厚度沙埋下滨麦叶片根系可溶性蛋白质 (A)、脯氨酸 (B)、可溶性糖 (C) 含量的变化

Fig 4 Changes of the contents of soluble protein (A)、proline (B)、soluble sugar (C) in the leaves and roots of *Leymus mollis* under different depth of sand burial

地定植生存的关键,它也是植物长期对环境适应进化形成。由于揭示植物耐沙埋生理生态学适应机理,对未来其开发利用和沙地群落的管理具有重要指导作用,因而得到许多研究者的关注^[29-31]。在烟台海岸,常年的海风引起的沙埋作为一种胁迫因子使许多植物不能生存,砂引草、单叶蔓荆和滨麦是该海岸带仅能生存的几

种植物。其中,针对海岸沙地砂引草^[22]和单叶蔓荆^[23]耐沙埋机理已进行了研究。但研究仅局限地上部叶片,而未有对地下根进行研究。尽管砂引草、单叶蔓荆和滨麦同为耐沙埋植物,但由于分属于不同科属,其生物学特性不同。尤其是其叶片的形态和叶片在植株上分布的差异导致它们对沙埋处理的响应不同。如在不同厚度沙埋处理过程中,砂引草和单叶蔓荆植株上不同部位叶片分别处于不同厚度沙埋中。而滨麦的叶片为长条形,在不同厚度沙埋处理中,同一叶片可分属在不同沙埋层次中。同一叶片的不同部位经历着不同强度的沙埋,它们的生理响应方式是否一样,同一叶片沙埋部位和没沙埋部位的抗逆生理变化是否有差异。另外陆地植物根是其吸收土壤中的水、二氧化碳和无机盐的重要器官,沙埋是否对根代谢有影响,根是否对沙埋胁迫做出生理响应呢,目前尚不清楚。

我们的结果表明,轻度和中度沙埋后沙上叶片生长加快,长度比对照长,而沙下叶片变黄。同时伴随着沙埋厚度增加,沙上叶片 MDA 含量增加、SOD 和 CAT 活力增高、可溶性蛋白质、脯氨酸含量增加。研究表明,沙上叶片快速生长不仅与 SOD 和 CAT 活力和可溶性蛋白质和脯氨酸含量增加相关,而且也与 MDA 增加相关。沙埋引起沙上叶片 MDA 增加的原因是:(1)沙埋促使沙上绿色叶片光合作用强度增加引起氧自由基积累,因为光合生物产生氧气的同时,活性氧(ROS)即作为副产品随之出现^[32]。ROS 的增加导致膜脂过氧化程度加大和 MDA 含量增大。尤其是叶片顶部生长最快而 MDA 含量最高,表明叶片顶部光合作用最强,这也是其叶片顶部生长快的原因。(2)沙埋引起沙上叶片遭遇地面热辐射和干旱胁迫导致氧自由基在叶片积累。这是因为沙埋使远离地表的上部叶片接近沙表面,导致叶片接受的地面热辐射增多和受干旱和热胁迫加剧。胁迫使植物呼吸作用加剧导致活性氧积累^[32]。但是由于氧自由基产生与抗氧化酶活力的提高相关^[14-16]。沙埋在使沙上叶片细胞内氧自由基积累引起膜脂过氧化加强和 MDA 含量增高的同时,也诱导和激活保护酶系统,如提高 SOD 和 CAT 活力。而抗氧化酶可抑制细胞膜脂过氧化,维护细胞氧自由基代谢平衡,维护细胞正常代谢而生存。因此沙埋后沙上叶片通过积累的氧自由基快速激活抗氧化酶系统、维护氧自由基代谢平衡、保护细胞膜完整性,这可能是沙埋胁迫下,沙上绿色叶片可正常光合作用促使叶片伸长生长的关键。另外在沙上叶片 MDA 含量增多同时,叶片脯氨酸和可溶性蛋白质含量增多,由于脯氨酸的增加常常与缺水有关。沙埋在引起叶片顶部遭遇热辐射胁迫引起叶片过度蒸腾失水的同时造成细胞干旱,它是导致脯氨酸积累的诱因,但脯氨酸和可溶性蛋白质通过其渗透调节作用在防止水分丢失和维护叶片水分平衡起重要作用。

研究还发现,与对照同部位叶片相比,不同厚度沙埋 6d 沙下叶片 MDA 平均含量下降 8 %

(图 2)、SOD 和 CAT 平均活力减少 15 %和 40 % (图 3A, 3B)、可溶性蛋白质和可溶性糖下降 26 %和 48 % (图 4A, 4C)。研究表明,沙埋胁迫中沙下叶片 MDA 含量与抗氧化酶活力及渗透调节物含量变化趋势呈正相关。这是因为沙埋使沙下叶片处于低温潮湿、黑暗、缺氧和 CO₂不足。沙下黑暗和低温,抑制了叶片光合作用并降低了代谢速率也减小了活性氧自由基积累速率,同时也抑制了抗氧化酶活力的增高导致沙下抗氧化酶活力低于沙上。可见,沙下叶片维持细胞氧自由基代谢平衡和水分平衡可能是其叶片免受氧自由基伤害并支持沙上叶片顶部快速生长的关键。另外,由于禾本科叶片是条形叶并具有纵列平行脉序,在沙埋后,沙下部分叶片无法行光合作用时,其可能起输导作用,维持根到沙上叶片水分和养分连通体系,使沙上叶片光合作用产物运到根,和将根吸收的水分运到沙上叶片,以维持沙埋后植株的持续生长。因此沙埋后虽然沙下叶片无法继续光合作用,但由于这部位的叶片能维持氧自由基代谢平衡而不受氧自由基伤害,同时通过功能的改变和将其所含的可溶性糖运输到沙上叶片而支持着植株沙埋后的生存。

此外,滨麦有强大的根茎分布于深土层,为了能了解沙埋对根的影响,本试验仅研究了与叶直接连接、位于浅土层的根系对沙埋的生理响应。研究结果表明,没有沙埋(对照)的滨麦,同株根中 MDA 含量最低(图 2),SOD 和 CAT 活力和可溶性蛋白质含量也最低(图 3A, 3B, 图 4 A),只有根中脯氨酸和可溶性糖含量较高(图 4B, 4C),叶片各生理指标与根部差异显著($P < 0.05$)。这主要源于叶片和根生活在不同环境。根生活在土壤温差相对较小,水分较高导致根中氧自由基积累较少而 MDA 含量较低。在不同厚度沙埋处理 6 d,根中 MDA 和可溶性蛋白质含量、CAT 活力均变化不显著。而不同厚度沙埋却使根中 POD 和 SOD 活力和可溶性糖

含量小幅下降,但仍与叶差异显著($P<0.05$)。这可能是沙埋仅改变着叶生活环境,而没有改变根环境。沙埋后根中可溶性糖含量下降可能与沙下叶片失去光合作用能力使向根输送的可溶性糖减少,或根中呼吸强度加大消耗所致。可见,由于根的代谢、结构、环境与叶不同,使得根细胞可在较低的膜脂过氧化水平下生活,尤其在沙埋后根细胞仍维持较低的MDA和氧自由基代谢平衡可能是滨麦耐沙埋持续生长的源泉。另外,根茎是繁殖器官和储存器官,不同程度沙埋不仅没有影响根代谢和再生能力,而且海岸频繁的沙埋反而促进根茎上芽生长,这也许就是滨麦能在海岸前丘形成单一种群的原因。

4 结论

生长在海岸前丘沙地的滨麦,其条形叶片在不同厚度沙埋过程中,分属在不同沙埋厚度中,经过6 d沙埋处理,沙上叶片生长加速和沙上热辐射使沙上叶片,尤其是叶片顶部积累氧自由基导致膜脂过氧化加剧,同时也激活抗氧化酶(SOD和CAT)和增加渗透调节物(可溶性蛋白质和脯氨酸)含量,抑制膜脂过氧化维护细胞氧自由基代谢平衡。而沙下叶片由于无光而变黄,膜脂过氧化水平降低伴随抗氧化酶和渗透调节物含量的降低,叶片功能转变为输导系统支持沙上叶片的生长。同时由于沙埋没有影响到根,因而根细胞一直维持着低膜脂过氧化水平和抗氧化酶活力。因此不同厚度沙埋过程中滨麦叶片和根作为一个整体,维护细胞氧自由基代谢平衡和水分平衡、迅速适应沙埋环境调节营养分配、保护强大的根茎可能是其适应海岸频发沙埋的重要生理和生存策略。由于植物对胁迫的适应性反应是一个非常复杂的综合反应。至于滨麦适应沙埋的基因调控机制还有待于继续探索,因为这有助于作物和树木的抗风沙育种。

参考文献(References):

- [1] Gagné J M, Houle G. Factors responsible for *Honckenya peploides* (Caryophyllaceae) and *Leymus mollis* (Poaceae) spatial segregation on subarctic coastal dunes. *American Journal of Botany*, 2002, 89(3): 479-485.
- [2] McGuire P E, Dvorak J. High salt-tolerance potential in wheatgrasses. *Crop Science*, 1981, 21(5): 702-705.
- [3] Kishii M, Wang R R C, Tsujimoto H. Characteristics and behaviour of the chromosomes of *Leymus mollis* and *L. racemosus* (Triticeae, Poaceae) during mitosis and meiosis. *Chromosome Research*, 2003, 11(8): 741-748.
- [4] 赵继新, 周博, 庞玉辉, 王玉卿, 武军, 陈新宏, 程雪妮, 刘淑会, 傅杰. 滨麦低分子量谷蛋白亚基(LMW-GS)基因的分离与序列分析. *植物科学学报*, 2011, 29(6): 704-711.
- [5] Habora M E, Eltayeb A E, Tsujimoto H, Tanaka K. Identification of osmotic stress-responsive genes from *Leymus mollis*, a wild relative of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Breeding Science*, 2012, 62(1): 78-86.
- [6] 周博, 陈新宏, 庞玉辉, 赵继新等. 滨麦 HMW GS 启动子和编码区基因的分离与序列分析. *麦类作物学报*, 2011, 31(2): 202-208.
- [7] 周亮晨, 张相岐, 王献平, 吴立人, 周文娟, 张文俊, 景建康. 滨麦抗条锈病基因的染色体定位和分子标记. *遗传学报*, 2001, 28(9): 864-869.
- [8] Huang B R. *Plant-Environment Interactions*. 3rd ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2006: 70-87.
- [9] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Science*, 2002, 7(9): 405-410.
- [10] Jaspers P, Kangasjarvi J. Reactive oxygen species in abiotic stress signaling. *Physiologia Plantarum*, 2010, 138(4): 405-413.
- [11] Zhang J, Kirkham M B. Drought-stress-Induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species. *Plant & Cell Physiology*, 1994, 35(5): 785-791.
- [12] Sundar D, Perianayagay B, Reddy A R. Localization of antioxidant enzymes in the cellular compartments of sorghum leaves. *Plant Growth Regulation*, 2004, 44(2): 157-163.
- [13] Sairam R K, Srivastava G C. Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Plant Science*, 2002, 162(6): 897-904.
- [14] Rout N P, Shaw B P. Salt tolerance in aquatic macrophytes: possible involvement of the antioxidative enzymes. *Plant Science*, 2001, 160(3): 415-423.
- [15] Boo Y C, Jung J. Water deficit-induced oxidative stress and antioxidative defenses in rice plants. *Journal of Plant Physiology*, 1999, 155(2): 255-261.
- [16] Mutlu S, Atici Ö, Nalbantoglu B. Effects of salicylic acid and salinity on apoplastic antioxidant enzymes in two wheat cultivars differing in salt

- tolerance. *Biologia Plantarum*, 2009, 53(2): 334-338.
- [17] Zhou R L, Zhao H L. Seasonal pattern of antioxidant enzyme system in the roots of perennial forage grasses grown in alpine habitat, related to freezing tolerance. *Physiologia Plantarum*, 2004, 121(3): 399-408.
- [18] Guo F X, Zhang M X, Chen Y, Zhang W H, Xu S J, Wang J H, An L Z. Relation of several antioxidant enzymes to rapid freezing resistance in suspension cultured cells from alpine *Chorispora bungeana*. *Cryobiology*, 2006, 52(2): 241-250.
- [19] Deirdre G, Lelu-Walter M A, Parkinson M. Overproduction of proline in transgenic hybrid larch (*Larix x leptoeuropaea* (Dengler)) cultures renders them tolerant to cold, salt and frost. *Molecular Breeding*, 2005, 15(1): 21-29.
- [20] Slama I, Messedi D, Ghnaya T, Savoure A, Abdelly C. Effects of water deficit on growth and proline metabolism in *Sesuvium portulacastrum*. *Environmental and Experiment Botany*, 2006, 56(3): 231-238.
- [21] Lascano H R, Antonicelli G E, Luna C M, Melchiorre M N, Gomez L D, Racca R W, Trippi V S, Casano L M. Antioxidant system response of different wheat cultivars under drought: field and in vitro studies. *Australian Journal of Plant Physiology*, 2001, 28(11): 1095-1102.
- [22] 王进, 周瑞莲, 赵哈林, 赵彦宏, 侯玉萍. 海滨沙地砂引草对沙埋的生长和生理适应对策. *生态学报*, 2012, 32(14): 4291-4299.
- [23] 周瑞莲, 王进, 杨淑琴, 杨树德. 海滨沙滩单叶蔓荆对沙埋的生理响应特征. *生态学报*, 2013, 33(6): 1973-1981.
- [24] Cavalcanti F R, Oliveira J T, Martins-Miranda A S, Viégas R A, Silveira J A G. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. *New Phytologist*, 2004, 163(3): 563-571.
- [25] 周瑞莲, 侯玉平, 王艳芳, 左进城. 不同沙地共有种沙生植物对环境的生理适应机理. *生态学报*, 2015, 35(2) (未出版刊物)
- [26] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 2003: 123-276.
- [27] Drzakiewicz M, Skórzyńska-Polit E, Krupa Z. Copper-induced oxidative stress and antioxidant defence in *Arabidopsis thaliana*. *Biometals*, 2004, 17(4): 379-387.
- [28] Luna C, Garcia-Seffino L, Arias C, Taleisnik E. Oxidative stress indicators as selection tools for salt tolerance. *Plant Breeding*, 2000, 119(4): 341-345.
- [29] 何玉惠, 赵哈林, 赵学勇, 刘新平. 沙埋对小叶锦鸡儿幼苗生长和生物量分配的影响. *干旱区地理*, 2008, 31(5): 701-706.
- [30] 赵哈林, 何玉惠, 岳广阳, 周瑞莲. 风吹、沙埋对沙地植物幼苗生长和光合蒸腾特性的影响. *生态学杂志*, 2010, 29(3): 413-419.
- [31] 刘海江, 郭柯. 沙埋对中间锦鸡儿幼苗生长发育的影响. *生态学报*, 2005, 25(10): 2550-2555.
- [32] Asada K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology*, 1999, 50: 601-639.