

· 中药农业 ·

外源钙对干旱胁迫下甘草生理特性的影响[△]安钰^{1*}, 刘华¹, 李明¹, 李生兵², 张清云¹

1. 宁夏农林科学院 荒漠化治理研究所, 宁夏 银川 750002; 2. 宁夏盐池县科学技术局, 宁夏 盐池 751500

[摘要] **目的:** 探讨外源钙对干旱胁迫下甘草生理特性的影响。**方法:** 采用称重控水法模拟干旱胁迫, 研究施用外源钙对干旱胁迫下甘草叶片叶绿素含量、光合特性、抗氧化酶活性和丙二醛含量的影响。**结果:** 随着干旱胁迫程度的加重, 甘草叶片净光合速率、气孔导度和胞间 CO₂ 浓度均呈先上升后下降趋势, 叶绿素含量、蒸腾速率呈下降趋势; 施用外源钙后, 甘草叶片叶绿素含量、净光合速率、气孔导度、胞间 CO₂ 浓度、蒸腾速率在各干旱胁迫下均有不同程度提高。随着干旱胁迫程度的增加, 甘草叶片丙二醛(MDA)含量、过氧化氢酶(CAT)活性持续升高, 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性呈先增加后下降的趋势; 施用外源钙后, 降低了MDA含量, 提高了SOD、POD、CAT的活性。**结论:** 施用外源钙可以有效缓解干旱胁迫对甘草造成的伤害, 从而增强甘草对干旱的适应能力。

[关键词] 外源钙; 干旱胁迫; 甘草; 抗氧化酶; 光合特性

[中图分类号] R282.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2019)10-1397-05

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20190508003

Effects of Exogenous Calcium on Physiological Characteristic of *Glycyrrhiza uralensis* under Drought StressAN Yu^{1*}, LIU Hua¹, LI Ming¹, LI Sheng-bing², ZHANG Qing-yun¹

1. Institute of Desertification Control, Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Yinchuan 750002, China;

2. Yanchi Science & Technology Bureau, Yanchi 751500, China

[Abstract] **Objective:** In order to reveal the effects of exogenous calcium on the physiological characteristic of *Glycyrrhiza uralensis* under drought stress. **Methods:** The paper studied the variation of exogenous calcium on the chlorophyll content, photosynthetic characteristics, antioxidant enzyme activity and MDA content at different drought stress with weighing control water. **Results:** The results showed that with the increase of drought stress, the photosynthetic rate, stomatal conductance and intercellular CO₂ concentrations decreased after an initial increased, chlorophyll content and transpiration rate decreased. The application of exogenous calcium could effectively increase chlorophyll content, photosynthetic rate, stomatal conductance, intercellular CO₂ concentrations and transpiration rate at different drought stress. The MDA and CAT of licorice leaves increased with the increase of drought stress, SOD and POD decreased after an initial increased. Exogenous calcium could reduce MDA content, improve SOD, POD and CAT activities. **Conclusion:** The application of exogenous calcium could effectively alleviate the injury on licorice caused by drought stress, and thereby enhanced the drought resistance of licorice.

[Keywords] exogenous calcium; drought stress; *Glycyrrhiza uralensis*; antioxidant enzymes; photosynthetic characteristics

甘草作为一种常用大宗中药材, 具有补脾益气、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛及调和诸药等功效^[1]。甘草除具有药用价值外, 还具有耐寒、耐热、耐盐碱、耐沙埋等优良特性, 可起到防风固沙的作用, 是我国西部干旱、半干旱荒漠地区生态环境保护的重要植物之一^[2]。此外, 甘草及其提取物可作为添加剂使用, 可广泛用于烟草、食品和日用化工等行业^[3]。

水资源短缺是西北地区典型的气候特征之一, 甘草是干旱、半干旱地区重要的药用植物资源, 在生产过程中容易受到干旱灾害的制约。提高干旱胁迫下甘草的产量和质量对我国甘草产业的发展具有重要的意义。Ca²⁺除作为细胞壁的结构物质外, 也可以作为第二信使参与植物体内的许多生理活动, 减轻环境胁迫对植物细胞膜造成的伤害, 进而提高

[△] [基金项目] 宁夏自然科学基金项目(NZ16115); 中央本级重大增减支项目(2060302)

* [通信作者] 安钰, 副研究员, 研究方向: 中药材种植技术; E-mail: anyu-02@163.com

植物的抗逆性^[4-6]。关于甘草抗旱生理的研究较多^[7-9]，但关于外源钙提高甘草抗旱能力的研究相对较少。本研究以1年生甘草种苗为材料，通过分析氯化钙(CaCl_2)对干旱胁迫下甘草生理特性的影响，探讨了外源钙对干旱胁迫下甘草生长的缓解作用，为缓解干旱胁迫对甘草生长的影响提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为1年生甘草种苗，由宁夏农林科学院荒漠化治理研究所李明研究员鉴定为乌拉尔甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的种苗。

1.2 试验设计

2017年4月下旬，在宁夏盐池县沙边子试验基地开展盆栽试验，选取大小、长势基本一致的甘草种苗移栽花盆内(盆口直径30 cm，盆底直径25 cm，高30 cm)，每盆移栽10株，土壤为沙壤土，定期浇水保持土壤湿润，于7月甘草枝叶生长盛期进行试验处理。

本试验设置干旱胁迫3个水平，分别为轻度(60%~65%)、中度(45%~50%)、重度(30%~35%)，采用称重法控制土壤相对含水量；钙处理两个水平，分别为0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (对照)、10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 溶液，共6个处理，每组处理重复6次。进行干旱胁迫处理的同时，用不同浓度 CaCl_2 溶液喷施甘草叶片2 d，每天早晚各喷施1次，时间为上午9:00和下午6:00，以叶片湿润而不滴水为标准。喷施 CaCl_2 溶液7 d后，采集生长健康、无病虫害叶片，液氮冷冻，-80℃保存，用于抗氧化酶活性及丙二醛含量的测定。

1.3 测定指标和方法

1.3.1 抗氧化酶活性及丙二醛测定 采用氮蓝四唑(NBT)法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性，采用紫外吸收法测定过氧化氢酶(CAT)活性，采用愈创木酚法测定过氧化物酶(POD)活性，采用硫代巴比妥酸法测定丙二醛(MDA)含量^[10]。

1.3.2 光合生理指标测定 喷施 CaCl_2 溶液7 d后，在上午9:00—11:00采用美国PP System公司生产的TPS-2便携式光合仪测定叶片中净光合速率、蒸腾速率、气孔导度、胞间 CO_2 浓度，采用SPAD-502型叶绿素计测定叶绿素相对含量。

1.4 数据处理

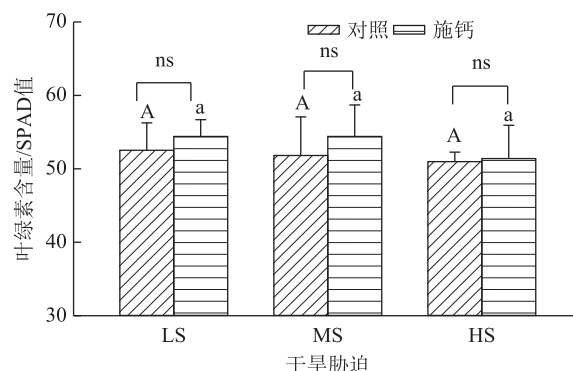
采用SPSS 20.0软件对试验数据进行统计分析，

对组间数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA)，采用Duncan法进行差异统计学意义分析($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 外源钙对干旱胁迫下甘草叶绿素含量的影响

叶绿素是植物进行光合作用中光能吸收和传递的重要物质。由图1可以看出，甘草叶片叶绿素含量随着干旱胁迫程度的增加持续下降；施用外源钙后，各干旱胁迫下甘草叶片叶绿素含量均有不同程度的提高，在轻度、中度干旱胁迫下，施用外源钙的甘草叶片叶绿素含量较对照增加4%和5%，差异无统计学意义($P > 0.05$)。表明适宜浓度的外源钙能提高干旱胁迫下甘草叶片叶绿素含量。



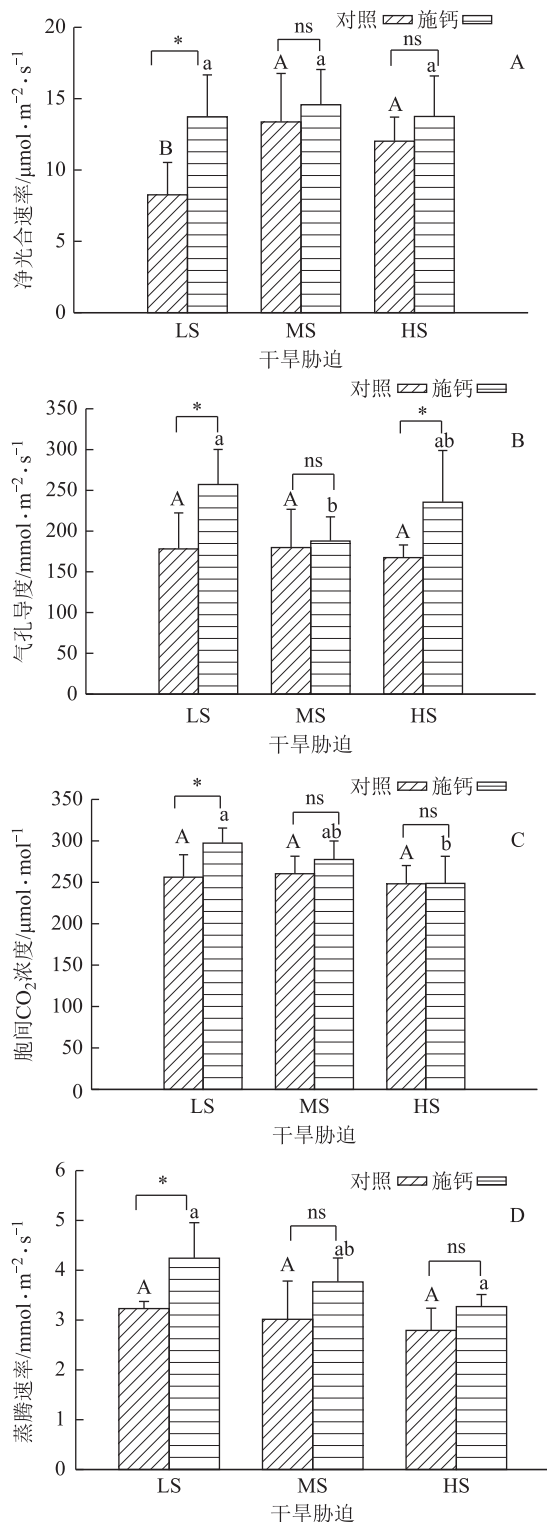
注：LS、轻度胁迫，MS、中度胁迫，HS、重度胁迫；不同大写字母表示未施钙处理间差异具有统计学意义($P < 0.05$)；不同小写字母表示施钙处理间差异具有统计学意义($P < 0.05$)；ns表示同一干旱处理下未施钙与施钙间差异不具有统计学意义($P > 0.05$)；下同。

图1 外源钙对干旱胁迫下甘草叶绿素含量的影响

2.2 外源钙对干旱胁迫下甘草光合特性的影响

光合作用与植物的生长发育、产量形成以及次生代谢产物的合成积累关系密切^[11]。从图2可以看出，随着干旱胁迫程度的加重，甘草叶片净光合速率、气孔导度和胞间 CO_2 浓度均呈先上升后下降趋势，中度和重度胁迫下净光合速率显著高于轻度胁迫($P < 0.05$)。施用外源钙后，不同干旱胁迫处理甘草叶片净光合速率、气孔导度和胞间 CO_2 浓度均明显升高，轻度胁迫下叶片净光合速率、气孔导度和胞间 CO_2 浓度显著高于对照($P < 0.05$)。蒸腾速率随着干旱胁迫程度的加重呈下降趋势。施用外源钙后，不同干旱胁迫处理甘草叶片蒸腾速率均有不同程度升高，轻度胁迫下蒸腾速率显著高于对照($P < 0.05$)。说明外源钙在不同干旱胁迫下可使甘草叶片的净光合速率、气孔导度、胞间 CO_2 浓度和蒸腾速

率升高,从而提高甘草光合气体交换能力,减轻干旱胁迫对甘草生长造成的伤害。

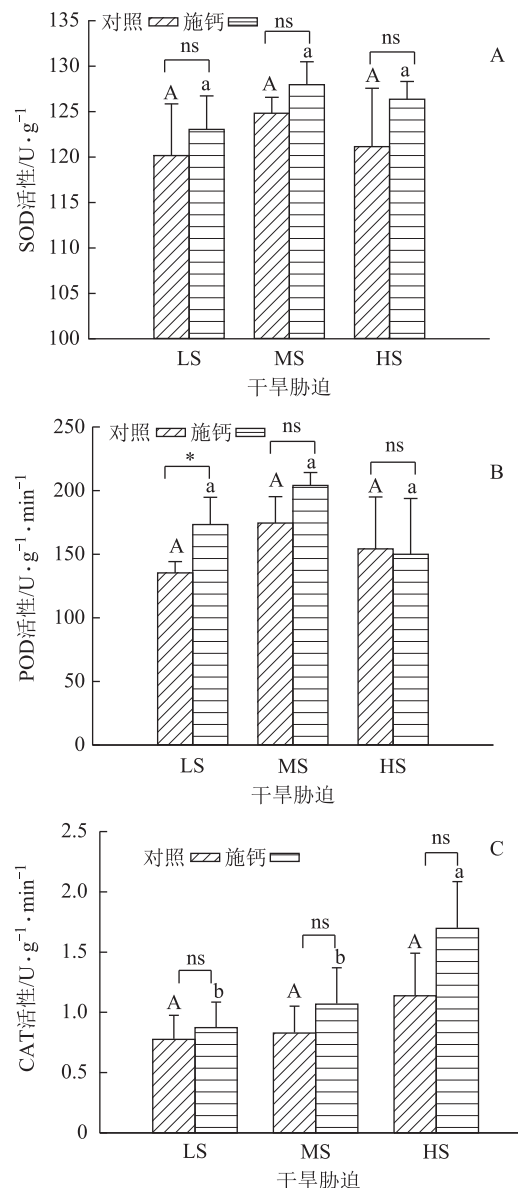


注: A. 净光合速率; B. 气孔导度; C. 胞间 CO_2 浓度; D. 蒸腾速率; * 表示同一干旱处理下未施钙与施钙间差异不具有统计学意义 ($P < 0.05$); 下同。

图2 外源钙对干旱胁迫下甘草光合特性的影响

2.3 外源钙对干旱胁迫下甘草抗氧化酶活性的影响

SOD、POD、CAT 是清除植物体内活性氧的 3 种重要的抗氧化保护酶,能及时有效地清除代谢过程产生的活性氧,保护细胞膜系统免受活性氧的伤害^[12]。干旱胁迫下,外源钙对甘草抗氧化酶活性均产生影响(见图 3)。甘草叶片 SOD、POD 活性随着干旱胁迫程度的增加呈先增加后下降的趋势;施用外源钙后,甘草叶片 SOD、POD 活性有不同程度的提高,表现出相似的变化趋势,在轻度胁迫时施用外源钙的 POD 活性显著高于对照 ($P < 0.05$)。与 SOD 和 POD 活性的变化规律不同,甘草叶片 CAT 活性随着干旱胁迫的增加呈上升趋势,且处理间差异



注: A. SOD 活性; B. POD 活性; C. CAT 活性。

图3 外源钙对干旱胁迫下甘草抗氧化酶活性的影响

不具有统计学意义($P > 0.05$)；施用外源钙后，甘草叶片 CAT 活性在中度胁迫和重度胁迫明显上升，在重度胁迫下 CAT 活性显著高于轻度和中度胁迫($P < 0.05$)；与对照组相比分别上升了 28% 和 49%，差异无统计学意义($P > 0.05$)。可见，外源钙能明显增加 SOD、POD、CAT 这 3 种酶活性，避免活性氧大量积累，减轻细胞膜受到伤害。表明外源钙可通过提高保护酶系统活性而缓解干旱胁迫对甘草生长造成的伤害。

2.4 外源钙对干旱胁迫下甘草 MDA 含量的影响

MDA 是植物细胞膜脂过氧化反应最主要的产物之一，能引起细胞膜代谢紊乱，其含量高低反映了植物受损伤的程度^[13]。由图 4 可以看出，甘草叶片 MDA 含量随着干旱胁迫程度的增加升高，说明干旱胁迫下甘草叶片的细胞膜受到了不同程度的损坏。施用外源钙后，甘草 MDA 含量与对照相比有所下降，不同干旱胁迫下分别下降了 17.6%、13.5% 及 11.9%。表明外源钙可以减少甘草叶片细胞膜脂过氧化产物 MDA 的积累，缓解了干旱胁迫对甘草叶片细胞膜造成的伤害。

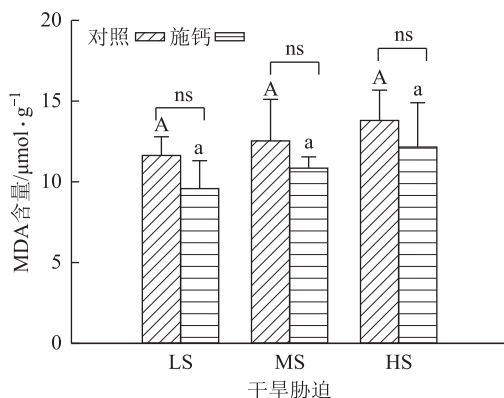


图4 外源钙对干旱胁迫下甘草 MDA 含量的影响

3 结论与讨论

干旱作为制约植物生长发育的主要逆境因素之一^[4]，对植物的影响主要体现在生长、生理、光合等指标的改变。钙不仅是植物生长发育所必需的营养元素，对于植物稳定细胞壁和细胞膜、产生体内酶与调控活性具有非常重要的作用^[13]，也是植物的第二信使，参与植物体内的多种生理活动^[5]。研究表明，植物可以通过提高体内的保护酶活性、渗透调节物质等来减轻干旱胁迫带来的伤害；施加适宜浓度的外源钙可以进一步升高植物体内保护酶活性，

降低蒸腾速率，维持植物生长、生理和光合能力，增强植物对干旱的适应能力^[14]。干旱胁迫条件下(土壤含水量 50% 和 35%)，用 10 mmol·L⁻¹ CaCl₂ 浸种处理，提高了苜蓿叶片相对含水量、叶绿素含量及 POD 活性，降低了细胞膜透性^[15]。陈莹等^[16]研究表明，施加外源钙能缓解干旱胁迫对木豆种子造成的伤害，提高木豆苗期抗旱能力。

光合色素是叶片进行光合作用的物质基础，植物叶片中叶绿素含量的多少决定了其光合作用的强弱和光合速率的高低^[17]。本研究中，甘草叶片叶绿素含量随着干旱胁迫程度的增加呈下降趋势，这与在干旱胁迫时水稻叶绿素含量持续下降的研究结果一致^[18]，可能是甘草通过降低叶片中叶绿素含量从而使其免受干旱胁迫伤害的一种生理反应。植物依靠光合作用来积累同化物和能量，光合作用的强弱通过净光合速率来表示。本研究中，甘草叶片净光合速率、气孔导度和胞间 CO₂ 浓度均随着干旱胁迫程度的加剧呈先上升后下降趋势，蒸腾速率呈下降趋势，表明重度干旱胁迫导致甘草叶片气孔关闭，减少植物水分的蒸腾，进而导致通过气孔进入叶片的 CO₂ 减少，降低光合效率。施用外源钙后，甘草叶片叶绿素含量、净光合速率、气孔导度、胞间 CO₂ 浓度、蒸腾速率在各干旱胁迫下均有不同程度提高，表明 Ca²⁺ 维持了叶片叶绿素的合成，参与了调节和控制气孔运动，增加了叶片的气孔导度及蒸腾速率，改善了 CO₂ 的供应，进而提高了叶片的光合速率。

植物受到逆境胁迫时体内会产生大量的活性氧，若不能及时清除活性氧，就会对植物的生物膜系统造成破坏，进而严重伤害植株。MDA 含量的高低反映了干旱胁迫对生物膜的破坏程度^[19]。本研究中，甘草叶片 MDA 含量随着干旱胁迫程度的加剧持续升高，而施用外源钙后，各干旱胁迫下甘草 MDA 含量与对照相比均有所下降，表明外源钙能在一定程度上减缓干旱胁迫对细胞膜造成的伤害。此外，甘草抗氧化酶活性随着干旱胁迫的增加表现为：SOD、POD 活性呈先增加后下降的趋势，CAT 活性呈上升趋势。而施用外源钙后，干旱胁迫下甘草叶片 SOD、POD、CAT 活性有所提高，在轻度胁迫时施钙的 POD 活性显著高于对照($P < 0.05$)，表明外源钙可有效调节活性氧代谢的平衡，抵御来自环境的氧化胁迫，这也是甘草适应干旱逆境的一个重要生理机制。

因此，外源钙可使干旱胁迫下甘草叶片的叶绿

素含量增加,净光合速率、蒸腾速率、气孔导度和胞间 CO_2 浓度提高,MDA 含量下降及抗氧化酶活性升高,以缓解干旱胁迫对甘草造成的伤害,增强甘草对干旱胁迫的适应能力。但甘草对干旱胁迫的适应是一个十分复杂的生理生化过程,其生理指标的变化与形态结构的变化是密不可分的,其抗旱机理还有待于进一步深入研究。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:87.
- [2] 鲁守平,孙群,王建华,等. 影响甘草品质的因素与甘草品质改良的研究概况[J]. 中草药,2005,36(8):1261-1263.
- [3] 王照兰,杜建材,于林清,等. 甘草的利用价值、研究现状及存在的问题[J]. 中国草地,2002,24(1):73-76.
- [4] 李强,曹建华,余龙江,等. 干旱胁迫过程中外源钙对忍冬光合生理的影响[J]. 生态环境学报,2010,19(10):2291-2296.
- [5] 郭郁频,任永霞,刘贵河,等. 外源钙和赤霉素对干旱胁迫下苜蓿幼苗生理特性的影响[J]. 草业学报,2015,24(7):89-96.
- [6] 王广恩,金卫平,李俊兰,等. 干旱胁迫下外源钙对棉花幼苗抗旱相关生理指标的影响[J]. 华北农学报,2010,25(增刊2):115-118.
- [7] 刘艳,蔡贵芳,陈贵林. 干旱胁迫对甘草幼苗活性氧代谢的影响[J]. 中国草地学报,2012,34(5):93-98.
- [8] 徐鹏,刘长利,许利平,等. 干旱胁迫下甘草酸合成与脱落酸的相关性初步研究[J]. 中草药,2010,41(8):1375-1377.
- [9] 刘长利,王文全,李帅英,等. 干旱胁迫对甘草生长的影响[J]. 中国中药杂志,2004,29(10):931-934.
- [10] 史树德,孙亚卿,魏磊. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国林业出版社,2011:33-36.
- [11] 刘长利,王文全,崔俊茹,等. 干旱胁迫对甘草光合特性与生物量分配的影响[J]. 中国沙漠,2006,26(1):142-145.
- [12] 马生军,程新宇,谢景,等. 锰营养对甘草光合特性和抗氧化酶活性的影响[J]. 现代中药研究与实践,2014,28(6):7-10.
- [13] 尹大川,祁金玉,邓勋,等. 施用外源钙对干旱胁迫下樟子松苗木生理特性的影响[J]. 沈阳农业大学学报,2018,49(5):559-565.
- [14] 赵丽丽,王普昶,陈超,等. 外源钙对干旱胁迫下岩溶山区白刺花幼苗生长、生理特性的影响[J]. 核农学报,2017,31(10):2039-2046.
- [15] 姜义宝,崔国文,李红. 干旱胁迫下外源钙对苜蓿抗旱相关生理指标的影响[J]. 草业学报,2005,14(5):32-36.
- [16] 陈莹,王普昶,赵丽丽,等. 外源钙对干旱胁迫下木豆种苗木生理特性的影响[J]. 草地学报,2014,22(5):1051-1055.
- [17] 王利军,李家承,刘允芬,等. 高温干旱胁迫下水杨酸和钙对柑橘光合作用和叶绿素荧光的影响[J]. 中国农学通报,2003,19(6):185-189.
- [18] 孙骏威,杨勇,黄宗安,等. 聚乙二醇诱导水分胁迫引起水稻光合下降的原因探讨[J]. 中国水稻科学,2004,18(6):539-543.
- [19] 陈露露,王秀峰,刘美,等. 外源钙对干旱胁迫下黄瓜幼苗叶片膜脂过氧化和光合特性的影响[J]. 山东农业科学,2016,48(4):28-33.

(收稿日期:2019-05-08 编辑:王丽英)