

生物土壤结皮中刺叶赤藓质膜透性对脱水、复水过程的响应^{*}

吴楠¹ 魏美丽^{1,2} 张元明^{1**}

1. 中国科学院绿洲生态与荒漠环境重点实验室, 中国科学院新疆生态与地理研究所, 乌鲁木齐 830011;

2. 中国科学院研究生院, 北京 100049

摘要 采用电导法、光镜观测、加热烘干法、茚三酮比色法、蒽酮比色法分别分析了变水过程中, 刺叶赤藓(*Syntrichia caninervis* Mitt.) 质膜透性、外部形态结构、相对含水量、游离脯氨酸、可溶性糖含量的变化, 结果表明: (1) 0—6, 6—12, 12—24 和 24—48 h 四个脱水时段之间、0—0.5, 0.5—1, 1—1.5 和 1.5—2 h 四个复水时段之间电导率的差异并不显著($p > 0.01$), 说明在脱水、复水过程中, 刺叶赤藓叶片质膜结构保持稳定; (2) 脱水时叶片皱缩, 紧贴于茎, 有效避免了水分散失; 复水后的叶片可借助粗壮中肋的支持和导水作用迅速展开; (3) 叶片相对含水量在脱水 6 h 后迅速下降, 14 h 后维持在 $< 5\%$ 的较低水平, 有利于植株快速进入休眠状态, 维持膜结构的完整性; (4) 脱水过程中, 游离脯氨酸、可溶性糖含量均稳步提高, 二者之间呈显著的线性正相关($R = 0.952$, $p < 0.01$); 二者均与叶片相对含水量呈显著的线性负相关(R 分别达 -0.946 和 -0.961 , p 均 < 0.01). 前者可能通过和磷脂的相互作用有效稳定膜结构, 后者可能通过维持小分子内部或它们之间的氢键来稳定膜系统或蛋白质的结构.

关键词 脱水—复水 质膜透性 游离脯氨酸 可溶性糖 刺叶赤藓

复苏植物(resurrection plants)(包括地衣、苔藓、蕨类及少数种子植物)具有独特有效的脱水、复苏机制, 能够在营养组织失去近 90% 的细胞水分后, 以一种类似休眠的方式度过严酷的干旱期, 在水分适宜的条件下于 24 h 内恢复正常的生命代谢活动, 继续其生活史^[1]. 其中, 复苏苔藓广布世界各大洲, 包括条件恶劣的南极洲^[2]. 在荒漠地区, 作为生物土壤结皮中的优势组分, 苔藓植物在改善土壤肥力状况、维持地表系统的稳定性和荒漠植被的恢复与重建等方面发挥着重要生态作用^[3-6]. 为了在极端干旱的环境中生存, 荒漠苔藓植物大多具备特殊的生存机制, 脱水状况下其新陈代谢几乎停

滞, 短暂的降水甚至微量的露水^[1] 即可迅速激活其新陈代谢活动, 从而适应荒漠中频繁、短暂的干旱、湿润循环^[7,8]. 为揭示苔藓植物特殊的耐旱机理, 国内外已开展形态结构、生理生化、分子调控等多方面研究, 发现苔藓植物主要通过激活体内预先存在的耐旱修复机制以忍受极度快速脱水并迅速复苏^[9], 脱水时间、脱水强度、温度等都会影响其脱水、复苏过程, 不同种的苔藓植物对脱水速率和脱水强度的耐受能力不同, 脱水、复苏过程中的代谢活动和基因表达等也存在明显差异^[10-13].

由于细胞膜是受脱水伤害的主要靶区, 膜系统的保护及修复机制被认为是荒漠耐旱苔藓植物关键

2009-04-15 收稿, 2009-05-21 收修改稿

^{*} 国家重点基础研究发展计划(批准号: 2009CB825104)、中国科学院知识创新工程(批准号: KZCX2-YW-336)和国家自然科学基金(批准号: 40771114)资助项目

^{**} 通信作者, E-mail: zhangym@ms.xjbi.ac.cn

©1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

生存机制之一^[5]。近年来, 诸多学者不断改进研究手段, 除借助传统的生物学超薄切片技术^[16]、冰冻蚀刻技术^[17]等进行电镜观测外, 物理学、化学手段如核磁共振法、电子顺磁共振和 Fourier 变换红外光谱法^[5, 18-22]等相继被应用于荒漠苔藓膜稳定性的研究中。然而, 苔藓植物在脱水、复苏过程中, 膜系统是否受损、何时受损、如何保持活力等问题仍存争议^[23]。有的认为干旱胁迫下植物体内会产生大量的氧自由基, 势必破坏膜的结构及生理完整性^[24, 25]。苔藓植物细胞膜即使在脱水过程中能够保持完好无损, 复水时也会因迅速吸水而被扰乱, 不过细胞膜的完整性会迅速修复^[9]。有的研究者发现荒漠苔藓植物在应对极端干旱环境时, 具有维持膜完整性的优势, 如细胞质能够在较高的含水量下即转化为玻璃态^[5]。越来越多借助透射电子显微镜观测到的细胞学证据也表明: 脱水、复水过程中, 苔藓叶片细胞膜能够保持完整的双层结构, 由此认为膜结构受损的观测结果是电子显微镜样品制片时固定方法不当所致^[10, 11, 17, 26]。如果膜受到损伤, 膜上将会出现孔道, 膜透性会增加, 因此还有学者致力于荒漠苔藓膜透性的研究, 发现膜透性变化与叶龄呈显著负相关, 膜透性强弱与蛋白质二级结构热稳定性呈正相关^[27], 干燥对膜透性的影响在不同温度下有差异^[22]。可见, 要综合细胞学、生理学等多方面的数据才能全面认识荒漠耐旱苔藓植物膜系统的调节机制及其重要意义。

刺叶赤藓(*Syntrichia caninervis* Mitt.)为典型耐旱植物, 常被用于耐旱机理的研究^[22, 28, 29]。该种是古尔班通古特沙漠生物土壤结皮中的优势藓类, 在干旱时失水并进入休眠状态(外表呈黑色), 一旦水分条件适宜可迅速恢复生理活动(外表呈黄绿色)^[30]。国外大多数工作围绕在美洲等地分布广泛的山墙藓(*Tortula rurallis*)展开, 但该藓在我国分布较少, 以本土耐旱藓类刺叶赤藓为研究对象, 探析其对干旱恶劣环境的适应及响应, 并与生物土壤结皮这一国际热点研究领域相结合, 进而发挥耐旱苔藓植物的生态学作用更具现实意义^[15, 31]。前期工作中, 魏美丽等发现该藓对干旱环境具有较强的结构适应性, 细胞膜和叶绿体双层膜系统在整个脱水过程中均保持完好^[32], 由此, 我们提出科学假设“荒漠藓类保持膜系统的完整性是其适应干旱环境

的结构基础”。本文旨在通过测定刺叶赤藓在脱水、复水过程中电导率的变化, 试图从质膜透性的角度验证该假设, 并从形态结构适应性、渗透物质调节等层面寻找可能的解释。渗透调节物质中, 选择具有代表性的游离脯氨酸、可溶性糖含量进行测定, 假设“在脱水诱导下, 刺叶赤藓的游离脯氨酸及可溶性糖含量均稳步积累, 从而有效保障膜结构的稳定性”。

1 研究区概况

古尔班通古特沙漠位于新疆北部准噶尔盆地腹心, 范围为 $44^{\circ}11' - 46^{\circ}20'N$, $84^{\circ}31' - 90^{\circ}00'E$, 面积 $4.88 \times 10^4 \text{ km}^2$, 是我国最大的固定和半固定沙漠。该沙漠年平均降水量普遍不超过150 mm, 沙漠腹地仅有70—100 mm, 主要集中于春季。年平均蒸发量在2000 mm以上。年均温6—10 $^{\circ}C$, 极端高温为40 $^{\circ}C$ 以上, $\geq 10^{\circ}C$ 的活动年积温可达3000—3500 $^{\circ}C$, 空气相对湿度平均50%—60%, 5—8月通常在45%以下。该沙漠由白梭梭、梭梭和其他沙生植物构成的小半乔木群落广泛发育, 同时由于降水的季节分配较为均匀, 冬春有一定的雨水, 使短命和类短命植物获得一定发育^[33]。除此以外, 该沙漠地表还发育有良好的生物土壤结皮(包括藻结皮、地衣结皮、苔藓结皮等多种类型), 其分布面积占整个沙漠面积的40%左右, 成为维持该沙漠地表稳定的主要生物因子^[30]。

2 材料与方法

2.1 样品采集

在古尔班通古特沙漠南部选择有生物结皮分布的典型沙垄($44^{\circ}32'30''N$, $88^{\circ}6'42''E$), 于2007年9月中旬进行采样。为避免地貌部位对实验结果的影响, 选择在苔藓结皮集中分布的沙间低地采集样品。采样前天气晴朗, 无降水, 采样时间为正午时分, 刺叶赤藓植株个体干燥收缩, 呈休眠状态, 因而形成的藓类结皮在外力作用下易破碎。为了保持结皮样品的完整性, 先湿润地表, 以改进型环刀(高12 cm, 直径8 cm)采集样方中长势正常均匀、发育较好的刺叶赤藓纯群斑块(叶片湿润后多呈黄绿色, 估计叶龄在6 a左右), 迅速运回实验室备

用。

2.2 脱水、复水处理

将采回的藓类生物结皮放入铺有滤纸的培养皿内, 喷洒蒸馏水, 待其黄绿色叶片充分展开后, 分离一定数量刺叶赤藓单株, 用锋利刀片切除植株体根部, 用蒸馏水反复冲洗以去除夹杂的沙粒。取上述植株 5 g, 连续变倍体式显微镜 (Olympus XTZ-E) 下用镊子和竹签小心剥离植株同一部位、颜色趋于一致的叶片 (注意防止材料的机械损伤), 在直径 9 cm 的圆形培养皿底部铺上同样大小滤纸, 其上铺满刺叶赤藓叶片, 滤纸中间留有直径为 2.5 cm 的空白部分, 从滤纸空白部分缓慢均匀加蒸馏水至叶片完全湿润。充分吸收水分后, 用滤纸吸收其表面多余水分, 将其均匀平铺在培养皿上, 置于超净工作台室温干燥 (温度 19—21 °C, 湿度 25%—27%), 直至干燥后的重量为处理前鲜重的 10%, 记录所需时间 t , 绘制自然脱水曲线。

依据自然脱水曲线设置脱水时间梯度 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 h... t 。

培养皿的上下用滤纸覆盖, 蒸馏水浸湿后将完全干燥的叶片放置其中进行复苏处理, 复水时间梯度设置为 (10, 20, 30, 60, 90, 120 min)。

2.3 形态结构观测

用 Olympus 生物光学显微镜 (BX-51, Japan) 观测湿润叶片、脱水叶片、复水后叶片刺叶赤藓单株及离体叶片外部形态结构并同步拍照。

2.4 相对含水量的测定

取各脱水、复水处理组刺叶赤藓大小、色泽一致的离体叶片, 用电子天平 (Mettler AJ100, Switzerland) 定时称重, 采用加热烘干法测定叶片相对含水量^[15]。

$$\text{叶片相对含水量} = \frac{\text{鲜重} - \text{干重}}{\text{饱和含水状态重量} - \text{干重}} \times 100\% \quad (1)$$

每个处理组测定 5 次, 取平均值。

2.5 电导率的测定

测定质膜透过性最常用的方法是测定组织外渗

液电导率的变化, 从而反映出质膜的伤害程度和所测材料抗逆性的大小^[34]。本文采用改进的电导法^[35, 36]测定刺叶赤藓叶片质膜相对透性。取 5 mL 超纯水置于 10 mL 试管中, 利用电导率仪 (DDS-307A, China) 测空白电导率 E_0 。将不同脱水、复水梯度处理组随机取刺叶赤藓叶片样品 0.1 g 放入具塞的试管中, 加 10 mL 超纯水浸提 30 min, 振荡摇匀, 测定煮前电导率 E_1 。测毕, 将试管置于沸水浴中 15 min, 取出试管冷却至室温, 放置 20 min, 摇匀, 测定煮后电导率 E_2 。每测定完一个样液后, 用蒸馏水漂洗电极, 再用滤纸将电极擦干, 然后进行下一个样液的测定。

$$\text{叶片相对电导率}(\%) = \frac{E_1 - E_0}{E_2 - E_0} \times 100\% \quad (2)$$

每个处理组测定 5 次, 取平均值作为该处理组电导率。

2.6 脯氨酸含量的测定

脯氨酸含量测定采用磺基水杨酸提取, 改进的茚三酮比色法^[37, 38], 具体步骤如下:

标准曲线的绘制: (i) 在分析天平上精确称取 25 mg 脯氨酸, 倒入小烧杯内, 用少量蒸馏水溶解, 然后倒入 250 mL 容量瓶中, 加蒸馏水定容至刻度, 此标准液中每 mL 含脯氨酸 100 μg 。(ii) 系列脯氨酸浓度的配制: 取 6 个 50 mL 容量瓶, 分别盛入脯氨酸原液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 及 3.0 mL, 用蒸馏水定容至刻度, 摇匀, 各瓶的脯氨酸浓度分别为 1, 2, 3, 4, 5 及 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。(iii) 取 6 支试管, 分别吸取 2 mL 系列标准浓度的脯氨酸溶液及 2 mL 冰醋酸和 2 mL 酸性茚三酮溶液, 每管在沸水浴中加热 30 min。(iv) 冷却后各试管准确加入 4 mL 甲苯, 振荡 30 s, 静置片刻, 使色素全部转至甲苯溶液。(v) 用注射器轻轻吸取各管上层脯氨酸甲苯溶液至比色杯中, 以甲苯溶液为空白对照, 于 520 nm 波长处进行比色。(vi) 先求出吸光度值 (Y) 依脯氨酸浓度 (X) 而变的回归方程式, 再按回归方程式绘制标准曲线, 计算测定液中脯氨酸的含量 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)。

每个脱水时间处理组随机取刺叶赤藓叶片 0.2 g, 分别置于 20 mL 试管中, 用 5 mL 3% 磺基水

杨酸研磨提取(终体积为 5 mL), 匀浆转入玻璃离心管, 沸水浴 10 min, 冷却至室温. 高速离心机(J-25, Germany)3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 2 mL, 加入 2 mL 蒸馏水、2 mL 冰乙酸和 4 mL 2.5% 的酸性茚三酮溶液, 沸水浴中显色 60 min, 冷却后, 加入 4 mL 甲苯, 振荡 30 s 以萃取红色物质, 静置片刻, 使色素全部转到甲苯溶液后, 用移液器吸取各管上层脯氨酸甲苯溶液至比色杯中, 用紫外可见分光光度计(DU 800, America)测定 OD₅₂₀ 值. 每个脱水时间处理组随机取刺叶赤藓叶片 0.2 g, 置于 80 °C 烘箱中 8 h 至质量恒定, 称其干重并记录.

$$\text{脯氨酸含量} = \frac{C \times V}{DW} \quad (3)$$

其中, C 为从标准曲线中查得的脯氨酸含量(μg); V 为提取液总体积(mL); a 为测定液体积(mL); DW 为离体叶片干重(g). 每个处理组测定 5 次, 取平均值.

2.7 可溶性糖含量的测定

可溶性糖含量测定采用改进的蒽酮比色法^[39-41], 具体步骤如下:

标准曲线的绘制: (i) 准确称取 100 mg 分析纯无水葡萄糖, 溶于蒸馏水并定容至 100 mL, 使用时再稀释 10 倍作为葡萄糖标准溶液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$). (ii) 称取 1.0 g 蒽酮, 溶于 80% 浓 H_2SO_4 1000 mL 中, 冷却至室温, 贮于具塞棕色瓶内, 冰箱保存, 可使用 2—3 周. (iii) 取标准糖溶液将其稀释成一系列不同浓度的溶液各 10 mL, 浓度分别为每 mL 含糖 0, 25, 50, 75, 100, 120, 150, 200 μg . 将试管编号, 依次将每管中加入 1 mL 上述葡萄糖标准溶液及 5 mL 的蒽酮试剂, 振荡使之完全混合, 在沸水浴中煮沸 10 min, 取出室温下冷却. (iv) 紫外可见分光光度计(DU 800, America)波长 620 nm 下比色, 用空白调零测定各溶液的光密度, 以光密度为纵坐标, 含糖量(g)为横坐标绘制标准曲线.

每个脱水时间处理组随机取刺叶赤藓叶片 0.3 g, 加 80% 乙醇进行匀浆, 转液到 25 mL 试管

中, 加 10 mL 蒸馏水, 沸水中提取 30 min, 提取液过滤定容至 25 mL. 取提取液 0.5 mL, 加入蒸馏水 1.5 mL 稀释, 加蒽酮试剂 2 mL, 同以上操作借助紫外可见分光光度计(DU 800, America)显色测定 OD₆₂₀ 值. 每个脱水时间处理组随机取刺叶赤藓叶片 0.3 g, 置于 80 °C 烘箱中 8 h 至质量恒定, 称其干重并记录.

$$\text{可溶性糖含量} = \frac{C \times V}{DW} \quad (4)$$

其中, C 为从标准曲线中查得的可溶性糖含量(g); V 为提取液总体积(mL); a 为测定液体积(mL); DW 为离体叶片干重(g). 每个处理组测定 5 次, 取平均值.

2.8 数据统计分析

利用 SPSS13.0(SPSS Inc., IL USA)中的单因素方差分析检验脱水时间对叶片相对含水量等的影响是否显著; 应用相关分析检验叶片含水量与相对电导率、脯氨酸含量、可溶性糖含量之间的线性关系的密切程度; 应用 S-N-K (Student-Newman-Keuls analysis)多重比较分析四个脱水时段之间、四个复水时段之间电导率有无显著差异. 利用 Microsoft Excel 2003、Origin 8.0 (OriginLab Cor., USA)作图, 分析外界水分变化过程中叶片电导率、相对含水量、脯氨酸含量、可溶性糖的变化趋势.

3 结果与分析

3.1 湿润、脱水、复水状态下刺叶赤藓外部形态结构的比较

刺叶赤藓植物体干燥状况下呈休眠状态, 外表呈黑色, 有可利用的水时可在数分钟内迅速复苏, 外表呈黄绿色, 密集丛生呈垫状形成致密的藓类生物结皮(图 1).

刺叶赤藓单个植株、叶片的光镜观测结果表明: 通常状况下, 植株粗壮, 高 0.5—1.2 cm, 茎直立, 单一或叉状分枝. 湿润时, 叶片舒展, 呈鲜绿色, 长卵圆形或舌形, 中肋明显, 覆瓦状排列, 倾立、稍背仰; 脱水后, 叶片皱缩, 呈黑色, 直立贴茎; 复水后叶片迅速展开, 中肋明显, 恢复湿润

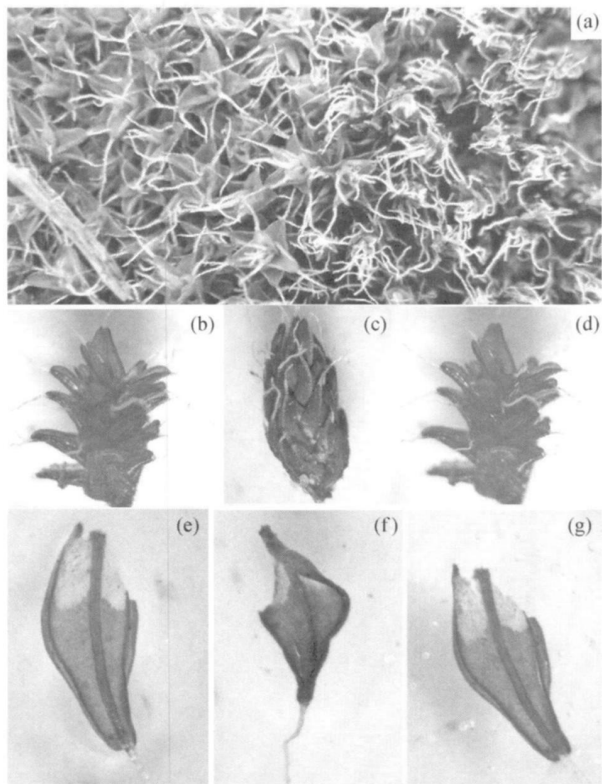


图 1 湿润、脱水、复水状态下中刺叶赤藓外部形态结构的比较

(a) 野外刺叶赤藓结皮干湿对比图; (b) 湿润状态下植株; (c) 脱水后植株; (d) 复水后植株; (e) 湿润状态下离体叶片; (f) 脱水后离体叶片; (g) 复水后离体叶片

时的状态(图 1)。

3.2 变水过程中刺叶赤藓叶片鲜重及相对含水量的变化

刺叶赤藓叶片鲜重在脱水后的最初 8 h 内即发

生较大变化, 下降近一半, 14 h 后其鲜重基本保持不变, 维持在约 1/5 的水平(图 2)。

叶片相对含水量也有类似的变化趋势(图 2), 在脱水的最初 6 h 内下降近一半; 12 h 后相对含水量即 < 10%; 14 h 后其相对含水量基本保持不变, 维持在 < 5% 的水平。

3.3 变水过程中刺叶赤藓叶片电导率的变化

在整个脱水、复水过程中, 刺叶赤藓叶片相对电导率有较小的波动, 但变化趋势并不明显。煮前电导率和煮后电导率的数据也有类似分析结果。煮后电导率平均可达煮前电导率的 3.25 倍, 表明沸水浴后, 高温破坏了细胞膜的完整性, 引起膜内的可溶性物质大量向膜外渗漏。

进一步进行 0—6, 6—12, 12—24, 24—48 h 四个脱水时段之间、0—0.5, 0.5—1, 1—1.5, 1.5—2 h 四个复水时段之间电导率的差异显著性检验, 结果表明, 上述各脱水时段间、各复水时段间的电导率均未呈现显著差异 ($p > 0.01$) (图 3)。随着叶片相对含水量的减少, 相对电导率并未呈现明显的线性变化(图 4), 进一步验证外界水分变化过程中, 细胞膜的完整性能得到较好的保持。

3.4 变水过程中刺叶赤藓叶片脯氨酸含量的变化

脱水过程中, 刺叶赤藓叶片的游离脯氨酸得到有效积累, 其含量随脱水时间加长而逐渐增加(图 5)。与未脱水(即湿润状态, 脱水 0 h)叶片相比, 脱水 4 h 时的叶片游离脯氨酸含量即发生较大变化, 增至脱水前的 1.5 倍; 脱水 12 h 时, 叶片游离脯氨酸含量超过脱水前的 2 倍; 脱水 24 h 时叶片游离脯氨酸含量则达到脱水前的近 3 倍。图 5 还显示, 脯

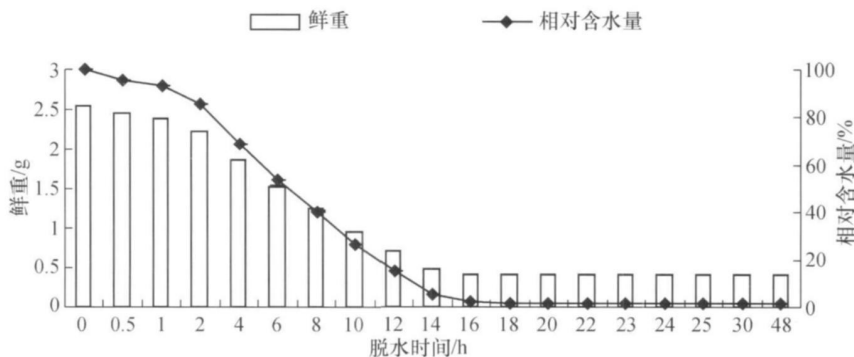


图 2 刺叶赤藓叶片鲜重及相对含水量随脱水时间的变化

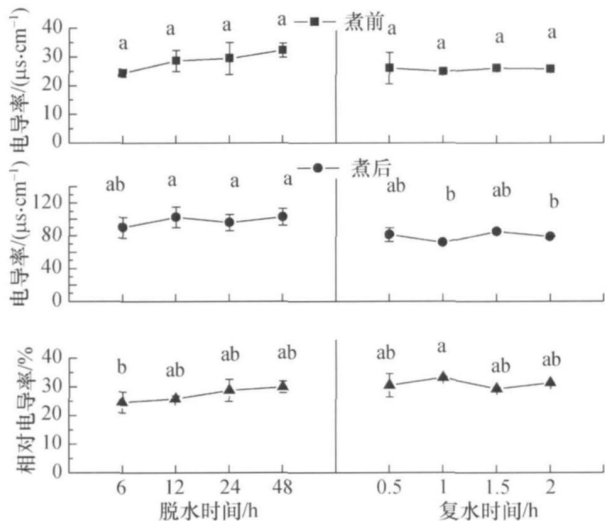


图 3 脱水、复苏过程中刺叶赤藓叶片电导率的变化
字母不同表示差异显著 ($p < 0.01$)

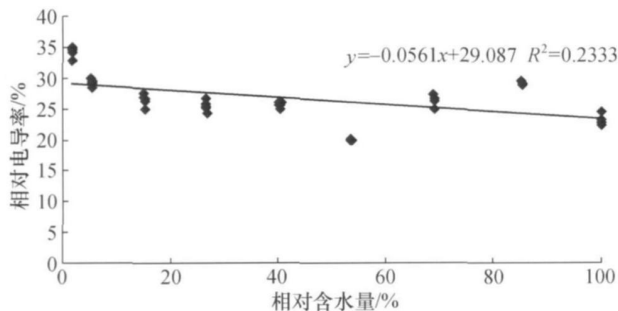


图 4 刺叶赤藓叶片相对电导率随相对含水量的变化

氨酸含量与叶片相对含水量呈线性负相关，进一步的相关分析表明，二者的皮尔逊相关系数 R 可达 -0.946 ($p < 0.01$)，验证了二者之间存在显著的线性负相关关系。

3.5 变水过程中刺叶赤藓叶片可溶性糖含量的变化

从图 6 中可见，脱水过程中，刺叶赤藓叶片的可溶性糖同样得到有效积累，且积累速度比脯氨酸略快。可溶性糖含量随脱水时间加长而逐渐增加，与脱水前（即湿润状态，脱水 0 h）叶片相比，脱水 6 h 时的叶片可溶性糖含量已超过脱水前的 2 倍；脱水 12 h 时叶片可溶性糖含量可达脱水前的 3 倍以上；脱水 24 h 时叶片可溶性糖含量已接近未脱水时的 4 倍。图 6 还显示，可溶性糖含量与叶片相对含水量呈线性负相关，进一步的相关分析表明，二者

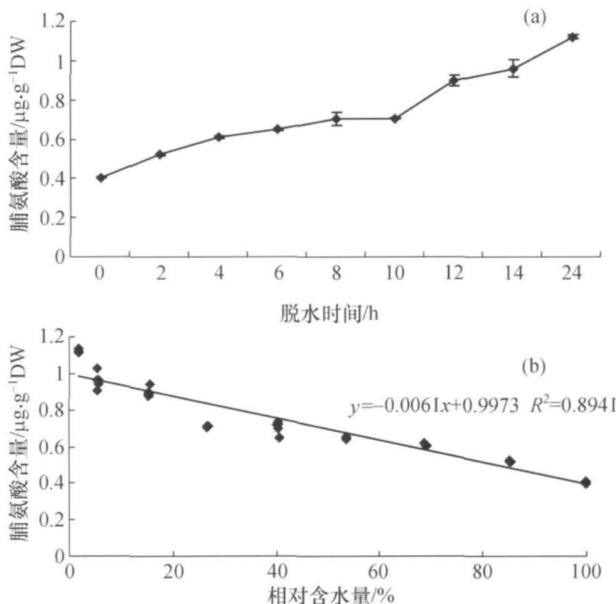


图 5 刺叶赤藓叶片脯氨酸含量随脱水时间
(a) 及相对含水量 (b) 的变化

的皮尔逊相关系数达 -0.961 ($p < 0.01$)，验证了二者之间存在显著的线性负相关关系；可溶性糖含量与脯氨酸含量则呈显著的线性正相关（皮尔逊相关系数达 0.952 ， $p < 0.01$ ）。

4 讨论

4.1 膜系统调节机制的复杂性

细胞膜系统在细胞代谢活动中起着重要作用，它不仅调节细胞物质交流和运输，而且可以影响代谢途径中的酶活性，而有些酶本身就存在于膜上^[42]。脱水会加剧膜脂过氧化作用，破坏膜的正常功能，从而造成对膜系统的伤害^[43]。如果膜受到损伤，膜上将会出现孔道，膜透性增加，膜内的可溶性物质大量向膜外渗漏，会破坏细胞内外的离子平衡，引起代谢紊乱。

脱水、复水过程中，刺叶赤藓叶片质膜透性没有显著变化，说明膜系统能做出快速响应和调节，质膜结构的完整性和稳定性能得到很好的保持，这与复苏被子植物牛耳草 (*Boea hygrometrica*) 的研究结果类似^[44]。然而，复苏蕨类植物卷柏 (*Selaginella tamariscina*) 在脱水过程中叶片质膜相对透性却

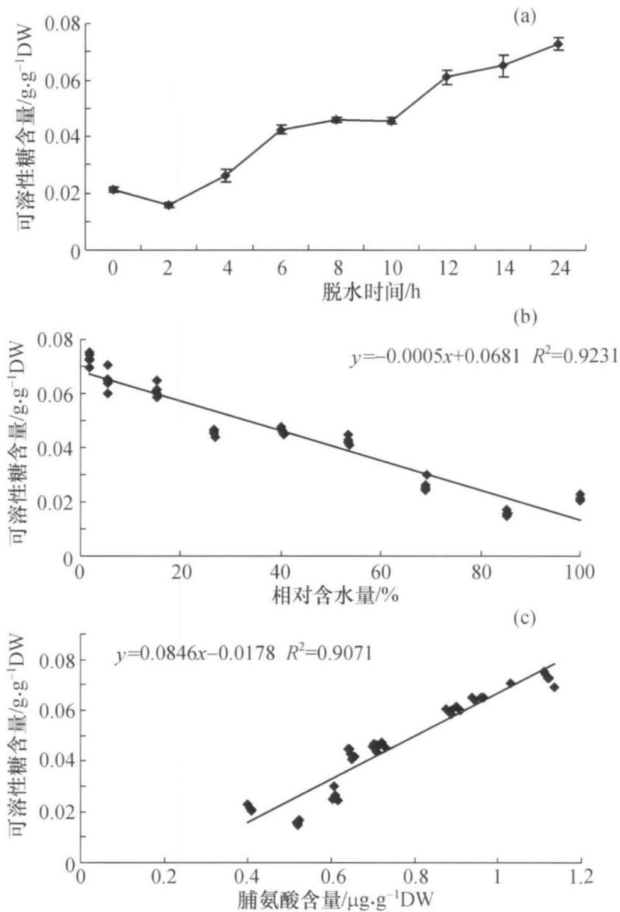


图 6 刺叶赤藓叶片可溶性糖含量随脱水时间(a)、叶片相对含水量(b)、脯氨酸含量(c)的变化

明显增加, 复水后又恢复较小值, 在轻度胁迫下甚至可恢复至脱水前水平, 可能得益于细胞内的自我修复系统的作用以及水分供给^[43]. 喜阴湿的湿地匍灯藓(*Plagiomnium acutum*)的质膜透性变化也与本研究有差别, 随脱水时间增加而增大, 脱水 12 h 后逐渐降低^[45]. 可见, 面对外界水分变化, 不同类群的复苏植物, 甚至不同生境中的苔藓植物具有不同的膜系统调节机制^[23], 阴湿生境中, 湿地匍灯藓有足够的时间启动修复机制, 其抗旱性体现在较强的修复能力^[45]; 而荒漠生境中的刺叶赤藓面临频繁、没有规律的干旱状况, 没有足够时间启动修复机制, 只能依靠较强的保护能力. 刺叶赤藓在脱水诱导下未受损的膜系统无疑为复水后植株各项生理活动的快速恢复奠定了基础.

刺叶赤藓的膜系统在高温胁迫下也有特定的保

护机制, 许书军等^[21]运用电子顺磁共振波谱研究了高温对刺叶赤藓叶片细胞质膜透性及脂质组成的影响, 发现刺叶赤藓野生叶片通过加快组织内部碳氢化合物合成速度, 能够减少质膜透性, 减轻高温对质膜胁迫损伤. 同时还发现随着叶龄增加, 热胁迫对刺叶赤藓细胞膜破坏程度降低, 黄绿叶质膜变化最小^[27, 46]. 本研究中采集的刺叶赤藓叶片湿润后多呈黄绿色, 估计叶龄在 6 a 左右, 可能这也是其在脱水、复水过程中得以维持相对恒定的膜透性的因素之一. 可见, 在极端干旱高温的沙漠生境中, 长期处于干旱、湿润、干旱循环过程中的荒漠藓类叶片对干旱和高温已同时产生较强的适应性.

4.2 外部形态结构的快速响应对膜稳定性的影响

刺叶赤藓外部形态结构对水分变化的快速响应在一定程度上减缓了脱水过程中细胞内部生理条件的剧烈变化, 为膜系统保持完整性奠定了良好的环境基础.

沙漠生境中强光辐射、水分缺乏、基质不稳、营养缺乏, 藓类植物的形态结构明显表现出对上述不利生态因子的适应性^[47]. 前期工作中对刺叶赤藓叶片形态结构的观测结果表明, 该种叶片背卷或内卷、具疣状突起、透明毛尖以及边缘细胞壁加厚等特征, 是对干旱荒漠环境长期适应的结果, 在一定程度上缓解了恶劣环境对其造成的干旱胁迫^[32, 48]. 本研究发现, 脱水过程中, 植株进入休眠状态, 表现为叶片皱缩, 紧贴于茎, 有效避免了水分的散失. 叶片背卷, 减小了叶片在空气中暴露的表面积, 不仅减少了自身体内水分的蒸发, 又可以防止叶片和茎遭受强光辐射, 也减少了因干燥和强光照射引起的灼伤. 叶的卷曲具备良好的贮水功能, 当复水湿润时叶片能很快伸开. 疣状突起可以反射太阳辐射, 一旦有可利用的水时, 可促进水分传导, 使水分尽快被植物的细胞所吸收. 较长的无色透明毛尖有助于吸收空气中的水分, 起到反射阳光, 减少水分蒸发的作用, 并防止过强的辐射对植株的伤害. 刺叶赤藓叶片复水后中肋较明显, 中肋细胞不仅具有支持作用, 将叶片伸展在空中, 而且其中的导水细胞可以及时地补充水分散失, 保证复水后光合作用的顺利进行^[19].

4.3 相对含水量对膜稳定性的影响

苔藓植物属于陆生植物早期分支的后裔, 与早期

陆生植物类似, 其结构简单, 无真正的根系统以及多为单层细胞的叶片等形态学特征使其控制体内水分的能力非常有限, 极易失去水分^[15]. 荒漠藓类能够忍耐快速脱水, 是它们与复苏被子植物的显著区别之一^[44, 49]. 本研究中, 与鳞叶藓 (*Taxiphyllum taxirameum*)^[41]、湿地匍灯藓 (*Plagiomnium acutum*)^[45]、金发藓 (*Polytrichum formosum*)^[10, 11] 的研究结果类似, 刺叶赤藓叶片相对含水量在脱水过程中发生了显著变化. 所不同的是, 喜阴湿的湿地匍灯藓在脱水 24 h 后, 其含水量仍高达 18.26%^[45]. 而鳞叶藓作为喀斯特地区干旱、富钙等生境的建群种, 在脱水 20 h 后可达到恒定的 8.8%^[41]. 本研究中荒漠生境中的刺叶赤藓迅速失水 (6 h 内即发生显著变化), 14 h 后其含水量可稳定在 < 5% 的较低水平, 这可能是其细胞膜系统保持完整性的又一原因, 刺叶赤藓得以快速进入休眠状态, 在干燥状态下维持细胞结构的完整性, 避免细胞受损和代谢物质破坏. 一旦有可利用的水时, 蓄势待发的刺叶赤藓植株即可在数分钟内快速复苏. 维管植物的种子有类似的保护机制, 李玉红等发现辣椒超干种子 (含水量 < 5%) 细胞膜系统能够保持良好的完整性^[42].

4.4 渗透调节物质对膜稳定性的影响

复苏植物在干旱胁迫时最常见的一种现象就是脯氨酸含量及可溶性糖的变化^[43]. 作为氨基酸中最为有效的渗透调节物质, 干旱胁迫时植物体内的脯氨酸、可溶性糖含量均会大大增高, 对稳定生物膜和蛋白质的功能具有重要作用^[37, 50].

脯氨酸是植物蛋白质的组分之一, 并以游离状态广泛地存在于植物体中. 正常条件下, 高等维管植物体中游离脯氨酸的含量并不多, 但在逆境条件下可增加 10—100 倍, 其中以干旱胁迫下脯氨酸积累最为显著. 本实验结果与大多数研究结果类似^[24, 37, 51], 脱水过程中脯氨酸持续增长, 直至脱水 24 h 时达到未脱水时的近 3 倍. 鳞叶藓在脱水过程中脯氨酸含量同样明显增长, 但在脱水 20 h 后趋于平缓^[41]. 湿地匍灯藓的脯氨酸含量变化却与本研究有所不同, 随脱水处理时间的增长, 脯氨酸含量先是明显增加, 但在脱水 12 h 后则表现为不增反降^[45]. 可见, 不同生境的苔藓植物可能具有不同的渗透调节机制. 任文伟等^[52]就发现羊草的抗旱性及脯氨酸积累特性与其生境有密切关系. 刺叶赤藓叶片游离脯氨酸在脱水过程中得到

有效积累, 通过和磷脂的相互作用稳定膜的结构^[43], 是保障膜系统完整性的又一可能因素. 除稳定膜结构外, 脯氨酸的积累对刺叶赤藓可能还具有其它生理意义, 如增加刺叶赤藓的抗旱性, 降低渗透势, 维持膨压, 从而使外界水分变化时体内各种相关生理过程仍然得以正常进行.

脱水过程中刺叶赤藓叶片可溶性糖类持续积累, 脱水 24 h 时叶片可溶性糖含量已接近未脱水时的 4 倍, 这与鳞叶藓的相关研究结果一致^[41], 徐杰等^[40]也认同藓类植物体内可溶性糖含量能够对干旱胁迫产生应激反应. 湿地匍灯藓的可溶性糖含量变化仍然与本研究有所不同, 随脱水处理时间的增长, 可溶性糖含量先是明显增加, 但在脱水 12 h 后则表现为不增反降^[45], 揭示不同生境下的苔藓植物可能具有不同的渗透调节机制. 刺叶赤藓在脱水过程中持续积累的可溶性糖类有助于膜系统完整性和稳定性的维持^[9, 50, 53]. Allison 等^[54]认为糖类物质可以通过维持小分子内部或它们之间的氢键来稳定膜系统或蛋白质的结构. Corwe 等^[55]也认为糖能够稳定干燥状态下膜和蛋白质的结构, 能使细胞内含物呈玻璃化状态而稳定细胞内部结构来维持脱水期间细胞结构的完整性. 他们还通过实验证明干燥状态下蔗糖能够维持细胞膜的脂双分子层的稳定性^[56]. Živković 等^[57]已经证明与抗旱相关的是糖类的组成而并不是它们的浓度起重要作用.

除上述原因外, 有助于刺叶赤藓膜系统完整性和稳定性的因素可能还包括 LEA 蛋白 (晚期胚胎富集蛋白)^[50, 58] 等. LEA 蛋白在生物代谢中有分子伴侣和亲水性溶质的作用, 从而保护蛋白结构及功能, 与植物抗旱性密切相关. 在膜结构中可能形成一种保护结构或起束缚离子的作用, 在植物脱水时可保持膜稳定性^[59, 60].

5 结论

脱水、复水过程中, 刺叶赤藓叶片质膜透性没有显著变化, 说明该藓种能够对外界水分变化做出快速响应和调节, 很好地保持质膜结构的完整性和稳定性. 这主要得益于其叶片能够迅速失水并稳定在较低的含水量 (< 5%) 以及脱水诱导下渗透调节物质游离脯氨酸、可溶性糖含量同步 (二者呈显著的线性正相关, $R = 0.952$, $p < 0.01$) 持续地增加.

本研究成果丰富了荒漠苔藓植物耐旱机理的生理学研究,发现不同生境下的苔藓植物可能具有不同的膜系统响应及渗透物质调节方式,对荒漠生境中的刺叶赤藓来说,主要依靠保护机制应对恶劣的干旱环境.作为本土优势种,刺叶赤藓的极端耐旱能力将为室内人工模拟合成及野外植入苔藓结皮提供有力支持,有助于应用生物结皮技术开展受损荒漠地表系统的生态修复与荒漠化防治试验示范.

致谢 本文实验得到岳红霞老师的悉心指导,野外样品采集及数据分析等得到张静、周晓兵、张丙昌博士、王莎莎、程军回硕士的大力支持,在此一并深表感谢.

参 考 文 献

- Alpert P. The discovery, scope, and puzzle of desiccation tolerance in plants. *Plant Ecol*, 2000, 151(1): 5—17
- Davey MC. Effects of short-term dehydration and rehydration on photosynthesis and respiration by Antarctic bryophytes. *Environ Exp Bot*, 1997, 37(2—3): 187—198
- Beckett RP, Marschall M, Laufer Z. Hardening enhances photoprotection in the moss *Atrichum androgynum* during rehydration by increasing fast- rather than slow-relaxing quenching. *J Bryol*, 2005, 27: 7—12
- Belnap J, Phillips SL, Troxler T. Soil lichen and moss cover and species richness can be highly dynamic: The effects of invasion by the annual exotic grass *Bromus tectorum*, precipitation, and temperature on biological soil crusts in SE Utah. *Appl Soil Ecol*, 2006, 32(1): 63—76
- Xu SJ, Wang Y, Chen W, et al. Influence of dehydration on the desert moss in molecular mobility and membrane fluidity monitored by spin label. *Biochem Syst Ecol*, 2009, 36(12): 935—937
- Zhang YM, Wang HL, Wang XQ, et al. The microstructure of microbiotic crust and its influence on wind erosion for a sandy soil surface in the Gurbantunggut Desert of North western China. *Geoderma*, 2006, 132(3—4): 441—449
- Harel Y, Ohad I, Kaplan A. Activation of photosynthesis and resistance to photoinhibition in cyanobacteria within biological desert crust. *Plant Physiol*, 2004, 136(2): 3070—3079
- Proctor MCF. How long must a desiccation-tolerant moss tolerate desiccation? Some results of 2 years' data logging on *Grimmia pulvinata*. *Physiol Plant*, 2004, 122(1): 21—27
- Oliver MJ, Velten J, Mischler BD. Desiccation tolerance in bryophytes: A reflection of the primitive strategy for plant survival in dehydrating habitats? *Int Com Biol*, 2005, 45: 788—799
- Pressel S, Ligrone R, Duckett JG. Effects of de- and rehydration on food-conducting cells in the moss *Polytrichum formosum*: A cytological study. *Ann Bot-london*, 2006, 98(1): 67—76
- Proctor MCF, Ligrone R, Duckett JG, et al. Desiccation tolerance in the moss *Polytrichum formosum*: Physiological and fine-structural changes during desiccation and recovery. *Ann Bot-london*, 2007, 99(6): 75—93
- Stark LR, Oliver MJ, Mischler BD, et al. Generational differences in response to desiccation stress in the desert moss *Tortula inermis*. *Ann Bot-london*, 2007, 99(1): 53—60
- Zechmann B, Müller M, Zellnig G. Membrane associated qualitative differences in cell ultrastructure of chemically and high pressure cryofixed plant cells. *J Struct Biol*, 2007, 158(3): 370—377
- 陈志玲, 欧阳浩淼, 刘祥林, 等. 微管骨架在苔藓植物适应干旱胁迫应答中的功能研究. *生物工程学报*, 2003, 19(3): 317—321
- 衣艳君, 刘家尧. 毛尖紫萼藓 (*Grimmia pilifera* P. Beauv) PS II 光化学效率对脱水和复水的响应. *生态学报*, 2007, 27(12): 5238—5244
- Singh J, Blackwell BA, Miller RW, et al. Membrane organization of the desiccation-tolerant moss *Tortula ruralis* in dehydrated states. *Plant Physiol*, 1984, 75(4): 1075—1079
- Platt KA, Oliver MJ, Thomson WW. Membranes and organelles of dehydrated *Selaginella* and *Tortula* retain their normal configuration and structural integrity freeze fracture evidence. *Protoplasma*, 1994, 178(1—2): 57—65
- Golovina EA, Hoekstra FA, Hemminga MA. Drying increases intracellular partitioning of amphiphilic substances into the lipid phase - Impact on membrane permeability and significance for desiccation tolerance. *Plant Physiol*, 1998, 118(3): 975—986
- Golovina EA, Hoekstra FA, Van Aelst AC. The competence to acquire cellular desiccation tolerance is independent of seed morphological development. *J Exp Bot*, 2001, 52(358): 1015—1027
- Xu SJ, Chen WH, Chen YW, et al. Effects of thermostress on the plasma membrane permeability of desert moss *Tortula desertorum* examined by *in-situ* micro-FTIR analysis. *Spectrosc Spect Anal*, 2007, 27(12): 2417—2421
- Xu SJ, Chen WH, Chen YW, et al. Electron paramagnetic resonance study of amphiphiles partitioning behavior in desiccation-tolerant moss during dehydration. *Chinese Chem Lett*, 2007, 18(7): 865—868
- Xu SJ, Liu CJ, Jiang PA, et al. The effects of drying following heat shock exposure of the desert moss *Syntrichia caninervis*. *Sci Total Environ*, 2009, 407(7): 2411—2419
- Mayaba N, Beckett RP, Csintalan Z, et al. ABA increases the desiccation tolerance of photosynthesis in the afro-montane understorey moss *Atrichum androgynum*. *Ann Bot-london*, 2001,

- 88(6): 1093—1100
- 24 韩蕊莲, 李丽霞, 梁宗锁. 干旱胁迫下沙棘叶片细胞膜透性与渗透调节物质研究. 西北植物学报, 2003, 23(1): 23—27
 - 25 米海莉, 许兴, 李树华, 等. 干旱胁迫下牛心朴子幼苗相对含水量、质膜透性及保护酶活性变化. 西北植物学报, 2003, 23(11): 1871—1876
 - 26 Platt KA, Oliver MJ, Thomson WW. Importance of the fixative for reliable ultrastructural preservation of poikilohydric plant tissues. Observations on dry, partially, and fully hydrated tissues of *Selaginella lepidophylla*. Ann Bot-london, 1997, 80(5): 599—610
 - 27 许书军, 王艳, 陈颖雯, 等. 顺磁共振和傅里叶变换红外光谱法研究高温对荒漠苔藓质膜结构影响. 分析化学, 2007, 35(3): 350—354
 - 28 Bowker MA, Stark LR, McLetchie DN, et al. Sex expression, skewed sex ratios, and microhabitat distribution in the dioecious desert moss *Syntrichia caninervis* (Pottiaceae). Ann Bot-london, 2000, 87(4): 517—526
 - 29 Stark LR, McLetchie DN. Gender-specific heat-shock tolerance of hydrated leaves in the desert moss *Syntrichia caninervis*. Physiol Plant, 2006, 126(2): 187—195
 - 30 Zhang YM, Chen J, Wang L, et al. The spatial distribution patterns of biological soil crusts in the Gurbantunggut Desert, Northern Xinjiang, China. J Arid Environ, 2007, 68(4): 599—610
 - 31 吴玉环, 程佳强, 冯虎元, 等. 耐旱藓类的抗旱生理及其机理研究. 中国沙漠, 2004, 24(1): 23—29
 - 32 魏美丽, 张元明, 张静. 生物结皮中齿肋赤藓叶片细胞显微与亚显微结构特征. 中国沙漠, 2009, 29(3): 493—498
 - 33 张立运, 陈昌笃. 论古尔班通古特沙漠植物多样性的一般特点. 生态学报, 2002, 22(11): 1923—1932
 - 34 王桂荣. 外渗电导法测定植物逆境生理的改进试验. 农技服务, 2008, 4: 125—125
 - 35 张菊梅, 王海洋, 覃建美. 电导法对蕨类抗寒性的测定. 西南大学学报: 自然科学版, 2007, 29(12): 81—84
 - 36 钟希琼, 林丽超, 梁火娣. 逆境下植物组织伤害程度测定方法——电导法的改进. 生物学杂志, 2003, 20(1): 45—45, 63
 - 37 陈少瑜, 郎南军, 李吉跃, 等. 干旱胁迫下坡柳等幼苗质膜相对透性和脯氨酸含量的变化. 广西植物, 2006, 26(1): 80—84
 - 38 张殿忠, 汪沛洪. 测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法. 植物生理学通讯, 1990, 4: 62—65
 - 39 罗在荣, 张显强, 唐金刚, 等. 高温胁迫对鳞叶藓失水量与可溶性糖含量变化的影响. 贵州师范大学学报: 自然科学版, 2003, 21(4): 63—65
 - 40 徐杰, 白学良, 田桂泉, 等. 干旱半干旱地区生物结皮层藓类植物氨基酸和营养物质组成特征及适应性分析. 生态学报, 2005, 25(6): 1247—1255
 - 41 张显强, 罗在荣, 唐金刚, 等. 高温和干旱胁迫对鳞叶藓游离脯氨酸和可溶性糖含量的影响. 广西植物, 2004, 24(6): 570—573
 - 42 李玉红, 对三汗, 陈鹏, 等. 辣椒种子的超干研究. 西北植物学报, 2003, 23(4): 663—666
 - 43 魏琳. 卷柏干旱生理基础及差异蛋白质组学研究. 福建师范大学硕士学位论文, 福州, 2006
 - 44 阳文龙. 牛耳草光合作用的脱水保护和复苏机理. 中国科学院植物研究所博士学位论文, 北京, 2002
 - 45 李朝阳, 田向荣, 陈军, 等. 脱水与复水过程中湿地鹼灯藓的生理生化响应. 广西植物, 2009, 29(1): 139—142
 - 46 许书军, 陈蔚红, 陈颖雯, 等. 原位显微红外法检测热胁迫对荒漠植物刺叶墙藓质膜透性的影响. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(12): 2417—2421
 - 47 田桂泉, 白学良, 徐杰, 等. 固定沙丘生物结皮层藓类植物形态结构及其适应性研究. 中国沙漠, 2005, 25(2): 249—255
 - 48 王红玲, 张元明. 古尔班通古特沙漠生物结皮中藓类植物形态解剖特征. 干旱区研究, 2008, 25(3): 363—370
 - 49 刘玉冰. 荒漠复苏植物红砂抗旱机理的生理生态学特性研究. 兰州大学博士学位论文, 兰州, 2006
 - 50 Le TN, McQueen-Mason SJ. Desiccation-tolerant plants in dry environments. Rev Environ Sci Biotechnol, 2006, 5: 269—279
 - 51 戴高兴, 彭克勤, 萧浪涛, 等. 聚乙二醇模拟干旱对耐低钾水稻幼苗丙二醛、脯氨酸含量和超氧化物歧化酶活性的影响. 中国水稻科学, 2006, 20(5): 557—559
 - 52 任文伟, 钱吉. 不同地理种群羊草在聚乙二醇胁迫下含水量和游离脯氨酸含量的比较. 生态学报, 2000, 20(2): 349—352
 - 53 Bartels D, Salamini F. Desiccation tolerance in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. A contribution to the study of drought tolerance at the molecular level. Plant Physiol, 2001, 127(4): 1346—1353
 - 54 Allison SD, Chang B, Randolph TW, et al. Hydrogen bonding between sugar and protein is responsible for inhibition of dehydration-induced protein unfolding. Arch Biochem Biophys, 1999, 365(2): 289—298
 - 55 Crowe JH, Hoekstra FA, Nguyen KH, et al. Is vitrification involved in depression of the phase transition temperature in dry phospholipids. Biochim Biophys Acta, 1996, 1280: 187—196
 - 56 Crowe JH, Carpenter JF, Crowe LM. The role of vitrification in anhydrobiosis. Annu Rev Physiol, 1998, 60: 73—103
 - 57 Žvković T, Quartacci MF, Stevanović B, et al. Low-molecular weight substances in the poikilohydric plant *Ramonda serbica* during dehydration and rehydration. Plant Sci, 2005, 168(1): 105—111
 - 58 Ngubane A, Farrant JM, Illing N. Characterisation of 'seed' LEA1Em genes in vegetative tissues of the resurrection plant *Xerophyta humilis*. S Afr J Bot, 2007, 73(3): 497
 - 59 李善菊, 任小林. 植物水分胁迫下功能蛋白的研究进展. 水土保持研究, 2005, 12(3): 64—69
 - 60 赵文明, 张林生. Lea蛋白与植物的抗旱性. 植物生理学通讯, 2003, 39(1): 61—66