



短期盐胁迫对苦苣菜幼苗叶片 抗逆生理指标的影响

贾鹏燕^{1,2,3}, 田福平², 刘一帆^{1,3}, 刘玉¹, 武高林^{1*}, 胡宇², 路远²

(1 西北农林科技大学 黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室, 陕西杨陵, 712100; 2 中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所/农业部兰州黄土高原生态环境重点野外科学观测试验站, 兰州 730050; 3 西北农林科技大学 林学院, 陕西杨陵 712100)

摘要:采用蛭石中浇灌 Hoagland 营养液的基质培养方法,以苗期苦苣菜为实验材料,设置 5 个 NaCl 处理浓度(0 (CK)、66、133、200、250、300 mmol · L⁻¹),分别在处理 1、2、3 d 采集苦苣菜叶片,测定其 Na⁺、K⁺、丙二醛(MDA)、可溶性糖、可溶性蛋白质及游离脯氨酸含量,以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性,探讨短期盐胁迫下苦苣菜叶片生理指标的变化特征,为进一步研究野生物种的耐盐性及耐盐机制提供理论依据。结果表明:(1)盐胁迫 1 d 和 2 d、NaCl 浓度为 66~200 mmol · L⁻¹时,苦苣菜叶片 Na⁺ 含量无显著变化,K⁺ 含量和 K⁺ / Na⁺ 较对照显著增大,并在 200 mmol · L⁻¹ NaCl 处理下达到最大值;盐胁迫 3 d 时,叶片 K⁺ 含量与胁迫前 2 d 的变化趋势相似,Na⁺ 含量随盐浓度升高显著增大,K⁺ / Na⁺ 除 66 mmol · L⁻¹ NaCl 处理外均随盐浓度升高而显著减小。(2)盐胁迫 1~3 d 时,苦苣菜叶片可溶性蛋白质、可溶性糖含量均随盐浓度升高而先增后减,可溶性蛋白质含量在胁迫 1~2 d、可溶性糖在胁迫 2~3 d 时均在 200 mmol · L⁻¹ NaCl 下达到最大值;游离脯氨酸含量在盐胁迫前 2 d 时可溶性蛋白质、可溶性糖的变化趋势相似,在胁迫 3 d 时随盐浓度升高而显著增大且绝大部分与对照差异显著。(3)苦苣菜叶片 SOD、POD、CAT 活性在盐胁迫 1~3 d 时均随盐浓度升高而先增后减;在胁迫 1~2 d 时,3 种酶活性均在 250 mmol · L⁻¹ NaCl 下达到最大值且所有盐浓度下均显著大于对照;在盐胁迫 3 d 时,SOD、POD 活性在 200 mmol · L⁻¹ NaCl 下达到最大值,CAT 活性在 133 mmol · L⁻¹ NaCl 下达到最大值且除 250、300 mmol · L⁻¹ NaCl 外均与对照差异显著。研究发现,苦苣菜具有较强的耐盐性,能够在盐胁迫(66~300 mmol · L⁻¹)处理 1~3 d 内进行一系列有效的生理调节,增强自身渗透调节能力及抗氧化能力,表现出较强的吸钾拒钠的特性,基本缓解了 Na⁺ 的毒害及渗透压力,但是 NaCl 浓度超过 200 mmol · L⁻¹ 后其渗透调节能力和抗氧化能力均显著降低。

关键词:苦苣菜; NaCl; 短期胁迫; 渗透调节物质; 抗氧化酶

中图分类号: Q945.78 **文献标志码:** A

Response of Leaf Physiological Indexes to Short-term Salinity Stress for Seedlings of *Sonchus oleraceus* L.

JIA Pengyan^{1,2,3}, TIAN Fuping², LIU Yifan^{1,3}, LIU Yu¹, WU Gaolin^{1*}, HU Yu², LU Yuan²

(1 State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Farming on the Loess Plateau, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2 Lanzhou Institute of Husbandry and Pharmaceutical Sciences of CAAS / The Lanzhou Scientific Observation and Experiment Field Station of Ministry of Agriculture for Ecological System in the Loess Plateau, Lanzhou 730050, China; 3 College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

收稿日期: 2017-02-09; 修改稿收到日期: 2017-06-24

基金项目: 国家自然科学基金(31372368); 中国农业科学院创新工程专项资金(CAAS-ASTIP-2014-LIHPS-08); 中国科学院“西部之光”项目(XAB2015A04); 中国科学院青年创新促进会(2011288)

作者简介: 贾鹏燕(1990-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事野生牧草抗逆与选育研究。E-mail: 13572129416@163.com

*通信作者: 武高林, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事草地植被生态与水土保持研究。E-mail: gaolinwu@gmail.com

Abstract: In order to evaluate the responses of physiological indexes of *Sonchus oleraceus* to short-term salt stress and provide theoretical instructions to the further research of salt tolerance and tolerance mechanism for wild plants, we irrigated *S. oleraceus* seedlings with Hoagland's nutrient solution containing NaCl at various concentrations [0 (control), 66, 133, 200, 250, 300 mmol · L⁻¹]. After 1, 2 and 3 day of salt treatments, the leaves of plants were harvested, Na⁺, K⁺, malondialdehyde (MDA), soluble sugar, soluble protein, free proline contents and superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) activities were measured. The results showed that: (1) after 1, 2 day of 66~200 mmol · L⁻¹ NaCl, the changes of Na⁺ content were not obvious. K⁺ content and K⁺/Na⁺ ratio significantly increased with salinity compared with CK and reached to the maximum at 200 mmol · L⁻¹ NaCl. After 3 day of salt treatment, the changes of K⁺ content had the similar tendency with 1 day and 2 day treatments. Na⁺ content significantly increased with salinity. K⁺/Na⁺ ratio significantly decreased with salinity except at 66 mmol · L⁻¹ NaCl. (2) Soluble sugar, soluble protein and proline contents increased, then decreased with salinity after 1-3 day of salt stress. At 200 mmol · L⁻¹ NaCl, soluble protein content reached to the maximum after 1 day and 2 day salt stress and soluble sugar content reached to the maximum after 2 day and 3 day salt stress. Free proline had the similar tendency after 1 day and 2 day salt stress and significantly increased compared with CK with salinity after 3 day salt stress. (3) The activities of SOD, POD and CAT increased then decreased with salinity after 1~3 day salt stress. All of them reached to the maximum at 250 mmol · L⁻¹ NaCl and were much higher than CK at all levels of salinity after 1 day and 2 day salt stress. The activities of SOD and POD reached to the maximum at 200 mmol · L⁻¹ NaCl after 3 day salt stress, during which CAT activity reached to the maximum at 250 mmol · L⁻¹ NaCl and were much higher than CK except at 250 and 300 mmol · L⁻¹ NaCl. It was demonstrated that *S. oleraceus* was very salt tolerant and could tolerance 66-300 mmol · L⁻¹ NaCl, as judged from the higher ability to absorb K⁺ and reject Na⁺ as well as the higher osmoregulation and antioxidant capacity, almost relieving the toxicity of Na⁺ and osmotic stress. But, the osmoregulation and antioxidant capacity decrease when NaCl concentration exceed 200 mmol · L⁻¹.

Key words: *Sonchus oleraceus* L.; NaCl; short-term stress; osmotic adjustment substances; antioxidant

野生种通常具有许多栽培种类所缺乏的优良性状,如抗旱^[1]、抗病^[2]、抗盐^[3-6]等,具有非常强的适应性和生存能力,自然分布非常广泛。土壤盐渍化已经成为严重限制农作物生长及产量的非生物因素之一,全球约有三分之一的耕地由于自然沉积或者人为浇灌成为盐渍化土壤,尤其在干旱和半干旱区,土壤盐渍化已成为一种普遍的特征^[7-9]。研究野生物种在盐胁迫下的生理指标响应特征及其耐盐性,有利于促进野生抗逆品种的鉴定、筛选及在干旱和半干旱区的引进栽培。

苦苣菜 (*Sonchus oleraceus* L.) 为菊科 (Compositae) 苦苣菜属 (*Sonchus*) 一年生草本植物,作为野生资源,其药用价值及经济价值非常高,且具有很强的耐盐性。目前对苦苣菜在盐胁迫下的生理指标变化特征及其耐盐性的研究非常少,陈贵华等^[10]发现,内蒙古地区野生苗期苦苣菜在 NaCl 浓度为 130 mmol/L 以下时均可正常生长,表现出较强的耐盐性,且苦苣菜中游离脯氨酸和 H₂O₂ 含量的变化对野生苦苣菜产生耐盐性起关键作用,H₂O₂ 可调控下游的抗氧化系统,提高野生苦苣菜的耐盐性;同

时,Ca²⁺-CaM 系统对苦苣菜响应盐胁迫的信号传导过程发挥作用,盐胁迫下,苦苣菜胞内 Ca²⁺ 浓度升高,结合并激活 CaM,形成钙信号系统 (Ca²⁺-CaM),调节相关基因的表达,调控抗氧化系统活性及游离脯氨酸和可溶性蛋白质含量增加,增强野生苦苣菜耐盐能力^[11]。上述研究均为长期盐胁迫 (30~60 d) 下的生理变化特征,但是植物在盐胁迫的最初几个小时或者几天,就已经受到由高浓度的 NaCl 引起的渗透胁迫或离子毒害。本研究以苗期苦苣菜为实验材料,研究其在短期 (1~3 d) 盐胁迫 (NaCl) 下的生理特征变化情况,以期揭示盐胁迫对苦苣菜生理指标的影响,促进对其耐盐性及耐盐机制的理解,为苦苣菜的开发利用及耐盐栽培提供理论指导。

1 材料和方法

1.1 实验材料

苦苣菜幼苗采用无性繁殖方法培育,用其根部种植。根部材料来自甘肃省天水 (34°38'N, 104°47'E)。本实验于兰州市大洼山试验田中进行 (36°02'N, 103°44'W),雨天用防雨棚遮雨,晴天露天生长,

试验期间不接受自然降水。

1.2 实验设计及处理

采用蛭石中浇灌 Hoagland 营养液的基质培养方法,待苦苣菜幼苗长至 5 叶以上时,挑选长势一致的苗期苦苣菜作为实验材料;用 Hoagland 营养液配制 NaCl 浓度为 66、133、200、250、300 mmol · L⁻¹ 的处理液,以不加 NaCl 的 Hoagland 营养液作为空白,每个梯度设置 6 次重复。为避免盐冲击效应,盐浓度每天递增 100 mmol · L⁻¹,直至预定浓度。分别在处理 1、2、3 d 采集苦苣菜叶片作为生理指标测定材料,采集之后立即放入液氮中保存。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 Na⁺、K⁺ 含量 将烘至恒重的苦苣菜叶片剪碎后放入 20 mL 试管中,加入 100 mmol · L⁻¹ 的冰乙酸 10 mL。然后密封试管,置于 90 °C 沸水中水浴 2 h,冷却,过滤,稀释适当倍数后,在火焰光度计(2655-00,美国)上测定离子含量。按照以下公式计算 Na⁺、K⁺ 含量:

$$\text{Na}^+、\text{K}^+ \text{ 浓度 (mmol} \cdot \text{g}^{-1}) = \text{待测液浓度 (mmol} \cdot \text{L}^{-1}) \times \text{浸提液体积 (L)} / \text{组织干重 (g)}。$$

1.3.2 抗氧化酶活性 取不同处理的苦苣菜叶片 0.5 g,50 mmol · L⁻¹ pH 为 7.8 的磷酸缓冲液 5 mL 于预冷的研钵中研磨至匀浆,在 10 000 r · min⁻¹、4 °C 的条件下离心 20 min,上清液即为酶粗提液。依据超氧化物歧化酶(SOD)抑制氮蓝四唑(NBT)在光下的还原作用来确定其酶活性大小^[12],以抑制 NBT 光化还原 50% 作为一个酶活单位(U)。反应液根据实际测试情况略作调整,6 mL 反应液包括 50 mmol · L⁻¹ pH 为 7.8 的磷酸缓冲液 3.09 mL,130 mmol · L⁻¹ 甲硫氨酸溶液 0.6 mL,750 μmol · L⁻¹ 氮蓝四唑溶液 0.6 mL,100 μmol · L⁻¹ EDTA-Na₂ 溶液 0.6 mL,20 μmol · L⁻¹ 核黄素 0.6 mL,蒸馏水 0.5 mL,酶提取液 0.01 mL。过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法^[13],略作修改,4 mL 反应液包括反应混合液(100 mmol · L⁻¹ pH 为 6.0 的磷酸缓冲液 50 mL,愈创木酚 28 μL,30% H₂O₂ 19 μL)3 mL,酶提取液 0.5 mL,20 mmol · L⁻¹ KH₂PO₄ 0.5 mL。过氧化氢酶(CAT)活性测定依据 Bergmeyer 的方法,反应混合液包括 50 mmol · L⁻¹ pH 为 7.8 的磷酸缓冲液,1 mmol · L⁻¹ EDTA 溶液及 3% H₂O₂ 溶液^[14]。

1.3.3 丙二醛含量 取不同处理的苦苣菜叶片 1 g,在 10%三氯乙酸 10 mL 研磨至匀浆,以 5 000 r · min⁻¹ 离心 10 min,其上清液为丙二醛(MDA)提取

液。MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸法^[15]。

1.3.4 渗透调节物质含量 取不同处理的苦苣菜叶片 0.5 g 于大试管中,加入 3% 磺基水杨酸溶液 9 mL,管口加盖玻璃球,于沸水浴中提取 10 min,上清液即为游离脯氨酸提取液,其含量测定依据酸性茚三酮显色法^[15]。取不同处理的苦苣菜叶片 0.1 g 于大试管中,加入 5 mL 蒸馏水,于沸水浴中提取 30 min,提取液过滤并最终定容至 25 mL 容量瓶中,可溶性糖含量测定依据蒽酮法^[16]。取不同处理的苦苣菜叶片 0.5 g,加蒸馏水 5 mL 于预冷的研钵中研磨至匀浆,在 10 000 r · min⁻¹、4 °C 的条件下离心 10 min,上清液即为可溶性蛋白质提取液,其含量测定依据考马斯亮蓝 G-250 染色法^[17]。

1.4 数据统计分析

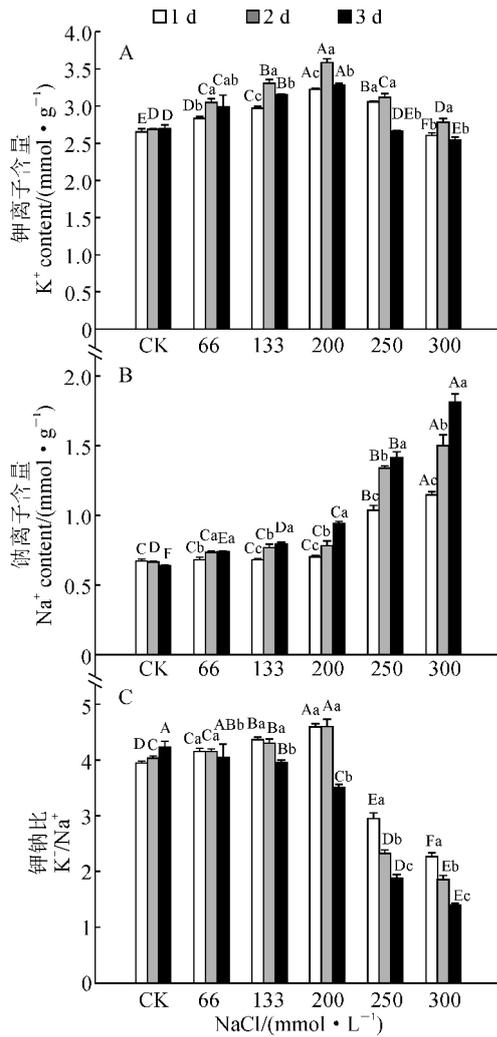
应用单因素方差分析(ANOVA)及多重比较(Duncan)检验各生理指标在不同时间及盐浓度胁迫下的差异显著性($P < 0.05$)。应用皮尔逊相关分析研究各指标之间的关系。所有统计分析利用 SPSS 18.0 和 Sigma Plot 10.0 软件进行。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫对苗期苦苣菜叶片中 Na⁺ 和 K⁺ 含量的影响

图 1,A 显示,随着 NaCl 浓度的增加,盐胁迫处理 1、2、3 d 苦苣菜叶片 K⁺ 含量均表现出先升高后降低的趋势,并均在 200 mmol · L⁻¹ NaCl 下达到最大值,此时分别是对照的 1.21 倍、1.33 倍、1.21 倍;在相同盐浓度下,苦苣菜叶片 K⁺ 含量随处理时间延长也先增后减,并均在处理 2 d 时积累最多;与对照相比较,苦苣菜叶片 K⁺ 含量除 300 mmol · L⁻¹ 浓度处理外均不同程度提高,且大多达到显著水平,在 300 mmol · L⁻¹ NaCl 处理 2 d 时变化不明显,处理 1 d、3 d 时显著降低(图 1,A)。同时,随着 NaCl 浓度的增加,盐胁迫处理 1~3 d 苦苣菜叶片 Na⁺ 含量基本表现出逐渐增加的趋势,但盐胁迫处理 1 d 苦苣菜 Na⁺ 含量仅在 250 和 300 mmol · L⁻¹ NaCl 下比对照显著提高,而盐胁迫处理 2 d 和 3 d 苦苣菜 Na⁺ 含量在各 NaCl 浓度下均显著高于相应对照;在相同 NaCl 浓度下,叶片 Na⁺ 含量随处理时间的延长而显著增大,如在 300 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫下,胁迫处理 1~3 d 叶片的分别是对照的 1.71 倍、2.25 倍和 2.85 倍(图 1,B)。

另外,随着 NaCl 浓度的增加,苦苣菜叶片中 K⁺ / Na⁺ 在处理 1 d 和 2 d 时呈先升后降的变化趋



相同处理时间内不同大写字母表示盐浓度间在 0.05 水平存在显著性差异,而相同盐浓度下不同小写字母表示处理时间之间在 0.05 水平存在显著差异;图中数值为平均值±标准差,n=3。下同
 Fig. 1 Changes of K⁺, Na⁺ contents and K⁺/Na⁺ ratio in leaves of *S. oleraceus* after stressed with NaCl for 1–3 days
 Different capital letters within same treatment indicate significant differences among different salt concentrations at 0.05 level, while the different normal letters within same salt concentration represent significant differences among different salt treatment periods at 0.05 level; The value is Mean±SD, n=3; The same as below

势(与 K⁺ 的变化趋势相似),并均在 200 mmol · L⁻¹ NaCl 处理下达到最大值,而在盐胁迫处理 3 d 后呈逐渐下降的趋势;在相同盐浓度条件下,叶片 K⁺/Na⁺ 基本随处理时间延长呈现出逐渐减小的趋势;除 66 mmol · L⁻¹ NaCl 处理外,其余浓度各处理时期苦苣菜 K⁺/Na⁺ 均与相应对照差异显著(图 1,C)。以上结果说明盐胁迫 1 和 2 d,苦苣菜具有较强的吸钾拒钠能力,尤其在 NaCl 浓度为 66~200

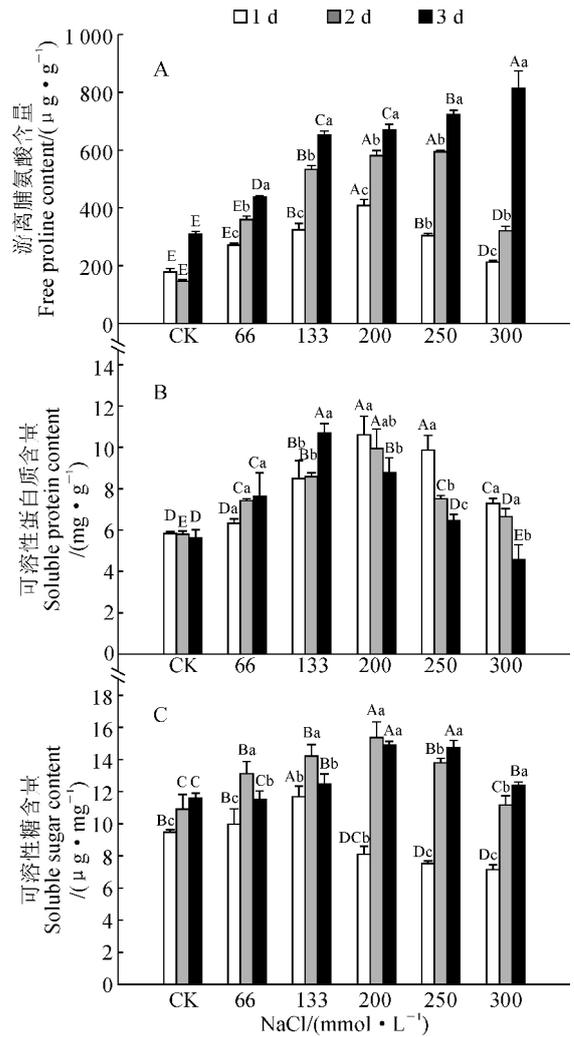


图 2 盐胁迫下苦苣菜叶片游离脯氨酸、可溶性蛋白质和可溶性糖含量的变化
 Fig. 2 Changes of proline, soluble protein and soluble sugar contents in leaves of *S. oleraceus* after stressed with NaCl for 1–3 days

mmol · L⁻¹ 时,可维持高水平的 K⁺ 含量及 K⁺/Na⁺,Na⁺ 含量基本没有变化;盐胁迫处理 3 d,苦苣菜吸钾拒钠能力减弱,Na⁺ 含量随盐浓度显著增大,K⁺/Na⁺ 随盐浓度显著减小,且均与各浓度处理下的 1 d、2 d 的水平差异显著。

2.2 NaCl 胁迫对苗期苦苣菜叶片中渗透调节物质含量的影响

由图 2,A 可知,盐胁迫 1 d 和 2 d 后,苦苣菜叶片游离脯氨酸含量随盐浓度的升高先增后减,并分别在 200 和 250 mmol · L⁻¹ NaCl 浓度下达到最大值,此时分别是同期对照的 2.27 倍和 4.02 倍;盐胁迫 3 d 后,游离脯氨酸含量随盐浓度升高而逐渐显著增大,在 300 mmol · L⁻¹ NaCl 处理下达到最大值,是同期对照的 2.62 倍。在各盐浓度处理下,脯氨

酸含量均随处理时间的延长显著增大,如 300 mmol · L⁻¹ NaCl 处理 1~3 d 的脯氨酸含量分别是对照的 1.18 倍、2.18 倍和 2.62 倍(图 2,A)。同时,在盐胁迫 1~3 d 后,苦苣菜叶片可溶性蛋白质及可溶性糖含量均随盐浓度升高而先增后减(图 2,B、C)。其中,可溶性蛋白质含量在胁迫 1 d、2 d 后均于 200 mmol · L⁻¹ NaCl 浓度下达到最大值,而在胁迫处理 3 d 后则于 133 mmol · L⁻¹ NaCl 浓度下达到最大值;可溶性糖含量在胁迫 1 d 后于 133 mmol · L⁻¹ 时达到最大值,在胁迫 2 d、3 d 后均于 NaCl 浓度为 200 mmol · L⁻¹ 时达到最大值。随胁迫时间延长,叶片可溶性蛋白质含量在 66~133 mmol · L⁻¹ 盐浓度时逐渐显著增大,在 200~300 mmol · L⁻¹ 盐浓度时则逐渐显著减小;同时,随胁迫时间延长,叶片可溶性糖含量在 66~200 mmol · L⁻¹ 盐浓度时先增后减,而在 250~300 mmol · L⁻¹ 盐浓度时则逐渐显著增大。如在 300 mmol · L⁻¹ NaCl 处理下,胁迫 1~3 d 的叶片可溶性蛋白质含量分别是对照的 1.25 倍、1.14 倍、0.81 倍,相应的可溶性糖含量分别是对照的 0.75 倍、1.02 倍、1.07 倍。以上结果说明 NaCl 处理提高了苦苣菜叶片中游离脯氨酸、可溶性蛋白质、可溶性糖含量,且 3 种渗透调节物质积累进程不尽相同,从而提高了盐胁迫下苦苣菜的渗

透调节能力,缓解了盐胁迫造成的渗透压力,提高了植株耐盐性。

2.3 NaCl 胁迫对苗期苦苣菜叶片中 SOD、POD、CAT 活性和 MDA 含量的影响

盐胁迫 1~3 d 后,苗期苦苣菜叶片中 SOD、POD、CAT 活性随胁迫时间的变化趋势均为先增后减,而其 MDA 含量则表现出逐渐增加的趋势(图 3)。首先,叶片 SOD 活性经盐胁迫 1 d 和 2 d 后于所有盐浓度处理下均比对照显著增强,且均在 250 mmol · L⁻¹ 浓度下达到最大值,其活性在盐胁迫 3 d 后也大多显著于对照(300 mmol · L⁻¹ 除外),并在 200 mmol · L⁻¹ 浓度下达到最大值;SOD 活性在 66~200 mmol · L⁻¹ 浓度处理下随胁迫时间逐渐升高,且处理 2 和 3 d 均显著高于处理 1 d(66 mmol · L⁻¹ 除外);其在 250 和 300 mmol · L⁻¹ 浓度下先升后降,并表现为 2 d > 1 d > 3 d,且三者间差异显著(图 3,A)。

其次,叶片中 CAT 活性经所有盐浓度处理 1 和 2 d 后也均显著大于对照,且均在 250 mmol · L⁻¹ 浓度下达到最大值,而其活性在盐胁迫 3 d 后于 66~200 mmol · L⁻¹ 浓度下均显著高于对照,在 250 和 300 mmol · L⁻¹ 浓度下显著低于对照,并于 133 mmol · L⁻¹ 浓度下达到最大值;CAT 活性在 66

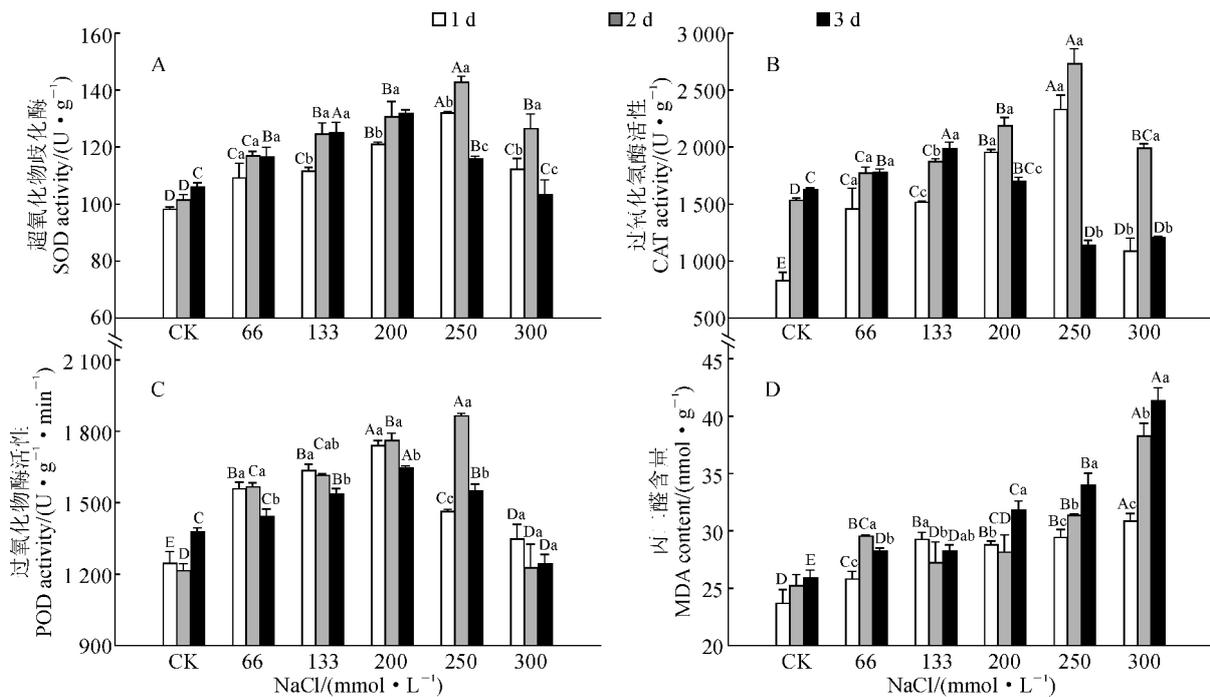


图 3 盐胁迫下苦苣菜叶片 SOD、CAT、POD 活性及 MDA 含量的变化

Fig. 3 Changes of SOD, CAT, POD activities and MDA content in leaves of *S. oleraceus* after stressed with NaCl for 1–3 days

~133 mmol · L⁻¹ 浓度下随时间呈上升趋势,且在 33 mmol · L⁻¹ 浓度下差异达到显著水平;CAT 活性在 200~300 mmol · L⁻¹ 浓度下随时间表现出先升后降的趋势,且处理 2 d 均显著大于处理 1 d 和 3 d 的水平(图 3,B)。

再次,叶片 POD 活性在处理 1 d 和 3 d 后于 200 mmol · L⁻¹ NaCl 处理下达到最大值,而处理 2 d 后于 250 mmol · L⁻¹ NaCl 处理下达到最大值。在盐浓度为 66~200 mmol · L⁻¹ 时,处理 1 d 和 2 d 的 POD 活性间无显著差异,而均显著大于处理 3 d;在盐浓度为 250 mmol · L⁻¹ 时,处理 2 d 的叶片 POD 活性显著大于处理 1 d 及 3 d;当盐浓度增大到 300 mmol · L⁻¹ 时,处理 1~3 d 的 POD 活性间均无显著差异(图 3,C)。

另外,盐胁迫处理 1~3 d 后,叶片 MDA 含量在各盐浓度处理下均显著高于对照,并在 300 mmol · L⁻¹ NaCl 处理下达到最大值。盐胁迫 1 d 后,133~250 mmol · L⁻¹ 浓度处理间的 MDA 含量无显著差异,但它们均与 66 和 300 mmol · L⁻¹ 浓度差异显著;盐胁迫 2 d 后,133 和 200 mmol · L⁻¹ 浓度处理间 MDA 含量无显著差异,但两者均显著低于 250 和 300 mmol · L⁻¹ NaCl 处理;盐胁迫 3 d 后,66 和 133 mmol · L⁻¹ 浓度处理间 MDA 含量无显著差异,但两者均显著低于 200~300 mmol · L⁻¹ 浓度处理。在 NaCl 浓度为 250~300 mmol · L⁻¹,MDA 含量随处理时间延长而显著增大(图 3,D)。

以上结果说明盐胁迫 1~3 d,当 NaCl 浓度为 66~200 mmol · L⁻¹ 时,苦苣菜幼苗为适应盐胁迫,可通过提高 SOD、CAT、POD 活性来增强自身活性氧清除能力,有效缓解膜脂过氧化作用;但 NaCl 浓度超过 200 mmol · L⁻¹ 时,虽 3 种酶活性均有所提高,但幼苗体内活性氧清除能力并未提高,造成了膜脂过氧化损伤。

2.4 盐胁迫下苦苣菜各生理指标的相关性分析

相关分析结果(表 1)表明,盐胁迫 1 d,苦苣菜叶片 K⁺ 含量与其 CAT、POD 活性以及可溶性蛋白质含量显著正相关,与其脯氨酸含量极显著正相关;POD 活性与脯氨酸含量显著正相关;Na⁺ 含量与各指标均无显著相关性关系。盐胁迫 2 d,苦苣菜叶片 K⁺ 含量与其可溶性蛋白质、脯氨酸含量显著正相关;其脯氨酸含量与 POD 活性以及可溶性蛋白质、可溶性糖含量均显著正相关;Na⁺ 含量与 MDA 含量显著正相关。盐胁迫 3 d,苦苣菜叶片 K⁺ 含量与其 SOD 活性极显著正相关,与其可溶性蛋白质含量

显著正相关;Na⁺ 含量与其 CAT 活性显著负相关,与其脯氨酸含量显著正相关。以上结果说明,苦苣菜叶片脯氨酸含量在盐胁迫 1 d 和 2 d 时与 K⁺ 含量及 POD 活性均为正相关关系,在盐胁迫 3 d 时则与 Na⁺ 含量显著正相关。

3 讨论

盐胁迫对植物的伤害主要体现在两个方面,即离子毒害和渗透胁迫。Munns 等^[9]认为在盐胁迫的最初几个小时或者几天,植物主要是受到由高浓度的 NaCl 引起的渗透胁迫。当细胞中的 Na⁺ 积累到对植物有害的浓度时,会破坏细胞内的离子平衡,影响细胞膜的稳定性、酶活性、矿质元素的吸收及光合作用^[18],从而对植物造成离子毒害^[19]。本研究结果显示,盐胁迫处理时间及不同盐浓度对苦苣菜叶片各生理生化指标均影响显著。植物在盐胁迫下控制 Na⁺ 在地上部分的积累及区域化,调控其他无机盐如 K⁺ 的选择性吸收及向地上部分的转运,维持叶片中足够的 K⁺ 及适当的 K⁺/Na⁺,调节细胞渗透压,推迟细胞脱水,是典型的盐生植物耐盐机制^[20]。本研究中苦苣菜在盐胁迫处理 1 d 和 2 d 时,于 66~200 mmol · L⁻¹ NaCl 浓度时表现出明显盐生植物吸钾拒钠的特性,即 Na⁺ 含量基本没有发生变化,而 K⁺ 含量及 K⁺/Na⁺ 显著增大并在 200 mmol · L⁻¹ 时达到最大值;而在盐胁迫处理 3 d 后,苦苣菜吸钾拒钠的能力有所减弱,叶片 K⁺ 含量随盐浓度的增加而显著增大,叶片 Na⁺ 含量也呈增加趋势,而 K⁺/Na⁺ 的变化则不明显。说明在 66~200 mmol · L⁻¹ NaCl 耐受范围内,苦苣菜叶片能通过调节 Na⁺ 和 K⁺ 的选择性吸收,基本缓解了 Na⁺ 的毒害。

为了抵御盐分的胁迫,植物一方面会将 Na⁺ 泵入液泡内,从而使盐区域化分布;另一方面积累一些无毒及可溶性的渗透保护物质如可溶性糖、可溶性蛋白质及游离脯氨酸等进行渗透调节,同时消除由于 Na⁺ 被隔离在液泡中造成液泡和细胞质间渗透势的失衡^[3,7]。盐生模式植物盐芥可忍受高达 500 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫,Kant 等^[20]认为盐芥这种高的耐盐性部分基于其对 Na⁺、Cl⁻ 在细胞中积累的严格控制及游离脯氨酸、可溶性糖等渗透保护物质的产生。脯氨酸不仅参与渗透调节,并在活性氧清除、维持细胞内酶的正常结构、减少细胞内蛋白质的沉淀及保护光合元件等方面发挥重要作用^[21]。转 P5CS 基因的水稻及花生在盐胁迫下脯氨酸含量

表 1 盐胁迫 1~3 d 苦苣菜叶片各生理指标相关性分析

Table 1 Correlation analysis results of physiological indexes in leaves of *S. oleraceus* after stressed with NaCl for 1-3 days

处理时间 Treatment time	指标 Index	SOD	CAT	POD	MDA	K ⁺	Na ⁺	PRO	SP	SS
第 1 天 The first day	SOD	1								
	CAT	0.944**	1							
	POD	0.448	0.617	1						
	MDA	0.655	0.456	0.332	1					
	K ⁺	0.710	0.869*	0.841*	0.290	1				
	Na ⁺	0.472	0.161	-0.392	0.673	-0.249	1			
	PRO	0.638	0.776	0.945**	0.406	0.957**	-0.250	1		
	SP	0.850*	0.861*	0.671	0.631	0.886*	0.169	0.863*	1	
	SS	-0.485	-0.248	0.276	-0.387	0.021	-0.767	0.057	-0.300	1
	第 2 天 The second day	SOD	1							
CAT		0.943**	1							
POD		0.743	0.749	1						
MDA		0.448	0.776	-0.204	1					
K ⁺		0.543	0.416	0.807	-0.277	1				
Na ⁺		0.623	0.339	-0.023	0.895*	-0.266	1			
PRO		0.872*	0.776	0.915*	0.031	0.858*	0.175	1		
SP		0.533	0.375	0.736	-0.190	0.990**	-0.225	0.830*	1	
SS		0.543	0.407	0.831*	-0.324	0.870*	-0.244	0.867*	0.825*	1
第 3 天 The third day		SOD	1							
	CAT	0.562	1							
	POD	0.906*	0.364	1						
	MDA	-0.310	-0.753	-0.403	1					
	K ⁺	0.933**	0.790	0.807	0.248	1				
	Na ⁺	-0.390	-0.840*	0.759	0.673	-0.596	1			
	PRO	0.173	-0.477	0.056	0.580	-0.070	0.819*	1		
	SP	0.884*	0.791	0.741	0.181	0.896*	-0.553	0.014	1	
	SS	0.547	-0.355	0.688	-0.506	0.248	0.323	0.580	0.314	1

注: SOD. 超氧化物歧化酶; CAT. 过氧化物酶; POD. 过氧化物酶; MDA. 丙二醛; PRO. 脯氨酸; SP. 可溶性蛋白质; SS. 可溶性糖

Note: SOD. Superoxide dismutase; CAT. Catalase; POD. Peroxidase; MDA. Malondialdehyde; PRO. Free proline; SP. Soluble protein; SS. Soluble sugar

相对于对照显著增大,MDA 含量显著减小,SOD 和 CAT 活性显著增强,耐盐性随之增强^[22-23]。本研究中苦苣菜在盐胁迫 1~3 d 后,其叶片游离脯氨酸、可溶性糖及可溶性蛋白质含量基本表现为先显著增大后减小的变化趋势,并多在 200 mmol · L⁻¹ 浓度下达到最大值,说明苦苣菜在盐浓度超过 200 mmol · L⁻¹ 后渗透调节能力有所降低。同时,苦苣菜叶片可溶性蛋白质含量在低盐胁迫下(66~200 mmol ·

L⁻¹)随胁迫时间的增加而显著增大,而可溶性糖和游离脯氨酸含量却在高盐胁迫下(200~300 mmol · L⁻¹)随胁迫时间的增加而显著增大,说明苦苣菜在盐胁迫下各渗透调节物质积累进程不同^[24]。另外,苦苣菜在盐胁迫处理 1 d、2 d 的脯氨酸含量与相应的 POD 活性及 K⁺ 含量显著正相关,但是胁迫处理 3 d 时脯氨酸含量与 Na⁺ 含量呈显著正相关;在盐胁迫处理 3 d 时,苦苣菜 Na⁺ 含量显著增加,其吸钾

拒钠的能力有所减弱,且当 NaCl 浓度大于 200 mmol · L⁻¹ 时,叶片 MDA 含量呈增加趋势,所以此时脯氨酸的积累是渗透调节的结果还是盐害程度增加的症状仍需进一步考证^[25]。

SOD、POD、CAT 是酶保护系统中的重要组成,三者的协同作用能够有效清除细胞中的 O₂⁻ 和 H₂O₂,使植物体内自由基维持在较低的水平^[3,26]。MRah 等^[27]认为盐芥高的耐盐性与其较高的抗氧化酶活性紧密相关。相同的结论也在耐盐性较强的野生甜菜品种及土豆品种中发现,盐胁迫下其抗氧化酶活性显著升高,自由基及 MDA 含量降低,提高了植物耐盐性^[3,5]。本研究中 NaCl 浓度在 200 mmol · L⁻¹ 以内时,苦苣菜叶片中 SOD 和 CAT 活性随着胁迫时间及盐浓度的增加而显著增强,MDA 含量基本没有显著变化,说明当 NaCl 浓度小于 200 mmol · L⁻¹ 时,苦苣菜叶片未受到氧化损伤;在盐

胁迫处理 2 d 后,苦苣菜叶片中的 3 种抗氧化酶的活性均在 250 mmol · L⁻¹ NaCl 处理下增加到最大值,但此浓度下的 MDA 及 Na⁺ 含量水平相对于 200 mmol · L⁻¹ 处理显著增加,而其相应的 K⁺ 及 K⁺ / Na⁺ 则比 200 mmol · L⁻¹ 处理显著减小。其可能的原因是 SOD、POD、CAT 活性虽然呈上升趋势,但是三者不能协调一致共同完成活性氧的清除,因而其抗氧化能力减弱,从而引发活性氧损伤^[28]。

综上所述,苦苣菜具有较强的耐盐性,能够在 66~300 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫处理 1~3 d 内进行一系列有效的自身生理调节,具有较强的吸钾拒钠的能力,增强渗透调节能力及抗氧化能力,基本缓解了 Na⁺ 的毒害及渗透压力。但是 NaCl 浓度超过 200 mmol · L⁻¹ 后其渗透调节能力和抗氧化能力均有所降低。

参考文献:

- [1] AHMED I M, CAO F, HAN Y, *et al.* Differential changes in grain ultrastructure, amylase, protein and amino acid profiles between Tibetan wild and cultivated barleys under drought and salinity alone and combined stress[J]. *Food Chemistry*, 2013, **141**(3): 2 743-2 750.
- [2] YUN S J, GYENIS L, HAYES P M, *et al.* Quantitative trait loci for multiple disease resistance in wild barley[J]. *Crop Sci.*, 2005, **45**(6): 2 563.
- [3] BOR M, ÖZDEMİR F, TÜRKAN I. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. [J]. *Plant Sci.*, 2003, **164**(1): 77-84.
- [4] LEXER C, LAI Z, RIESEBERG L H. Candidate gene polymorphisms associated with salt tolerance in wild sunflower hybrids: implications for the origin of *Helianthus paradoxus*, a diploid hybrid species[J]. *New Phytol.*, 2004, **161**(1): 225-233.
- [5] SHALATA A, MITTOVA V, VOLOKITA M, *et al.* Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: The root antioxidative system[J]. *Physiol Plantarum*, 2001, **112**(4): 487-494.
- [6] XUE Z, ZHAO S, GAO H, *et al.* The salt resistance of wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc. ZYD 03262) under NaCl stress is mainly determined by Na⁺ distribution in the plant [J]. *Acta Physiol. Plant*, 2013, **36**(1): 61-70.
- [7] GHOULAM C, FOURSAY A, FARES K. Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars[J]. *Environ Exp. Bot.*, 2002, **47**(1): 39-50.
- [8] MUNNS R. Comparative physiology of salt and water stress [J]. *Plant Cell and Environ.*, 2002, **25**(2): 239-250.
- [9] MUNNS R, TESTER M. Mechanisms of salinity tolerance [J]. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2008, 59: 651-681.
- [10] 陈贵华, 石 岭, 王 萍, 等. 盐胁迫对野生苦苣菜抗氧化系统的影响[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2011, **32**(1): 45-47.
CHEN G H, SHI L, WANG P, *et al.* The effects of antioxidative defense on salt tolerance in *Sonchus oleraceus* L. [J]. *Journal of Inner Mongolia Agricultural University*, 2011, **32**(1): 45-47.
- [11] 陈贵华, 石 岭. Ca²⁺-CaM 系统对野生苦苣菜耐盐抗氧化系统的调控[J]. 长江蔬菜, 2012, 6: 49-51.
CHEN G H, SHI L. Application research of golden drainage line cultivation method on seedling raising under facilities[J]. *Journal of Changjiang Vegetables*, 2012, 6: 49-51.
- [12] 邵从本, 罗广华, 王爱国, 等. 几种检测超氧化物歧化酶活性反应的比较[J]. 植物生理学通讯, 1983, 5: 48-51.
SHAO C B, LUO G H, WANG A G, *et al.* Comparisons of methods for the measurement of the activities of superoxide dismutase (SOD) [J]. *Plant Physiol. Comm.*, 1983, 5: 48-51.
- [13] OMRAN R G. Peroxide levels and the activities of catalase, peroxidase, and indoleacetic acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings[J]. *Plant Physiol.*, 1980, **65**

- (2): 407-408.
- [14] BERGMAYER N. Methoden der Enzymatischen Analyse [M]. Berlin: Akademie Verlag, 1970: 636-647.
- [15] 赵世杰, 许长成, 邹琦, 等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学报, 1994, 3: 207-210.
- ZHAO S J, XU C C, ZOU Q, *et al.* Improvements of method for measurement of malondialdehyde in plant tissues[J]. *Plant Physiology Communications*, 1994, 3: 207-210.
- [16] YEMM E W, WILLIS A J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone[J]. *Biochem J*, 1954, **57**(3): 508-514.
- [17] JONES C G, DANIEL H J, Compton S J. Measuring plant protein with the bradford assay: 1. evaluation and standard method[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1989, **15**(3): 979-992.
- [18] 赵昕, 赵敏桂, 谭会娟, 等. NaCl 胁迫对盐芥和拟南芥 K⁺、Na⁺ 吸收的影响(简报)[J]. 草业学报, 2007, **16**(4): 21-24.
- ZHAO X, ZHAO M G, TAN H J, *et al.* Effects of NaCl on Na⁺, K⁺ absorption of *Thellungiella salsuginea* and *Arabidopsis thaliana* [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2007, **16**(4): 21-24.
- [19] HERNÁNDEZ J A, ALMANSA M S. Short-term effects of salt stress on antioxidant systems and leaf water relations of pea leaves[J]. *Physiol Plantarum*, 2002, **115**(2): 251.
- [20] KANT S, KANT P, RAVEH E, *et al.* Evidence that differential gene expression between the halophyte, *Thellungiella halophila*, and *Arabidopsis thaliana* is responsible for higher levels of the compatible osmolyte proline and tight control of Na⁺ uptake in *T. halophila* [J]. *Plant Cell and Environ*, 2006, **29**(7): 1 220-1 234.
- [21] NOUNJAN N, NGHIA P T, THEERAKULPISUT P. Exogenous proline and trehalose promote recovery of rice seedlings from salt-stress and differentially modulate antioxidant enzymes and expression of related genes[J]. *J. Plant Physiology*, 2012, **169**(6): 596-604.
- [22] SU J, WU R. Stress-inducible synthesis of proline in transgenic rice confers faster growth under stress conditions than that with constitutive synthesis[J]. *Plant Sci.*, 2004, **166**(4): 941-948.
- [23] SURENDER R P, JOGESWAR G, RASINENI G K, *et al.* Proline over-accumulation alleviates salt stress and protects photosynthetic and antioxidant enzyme activities in transgenic sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench][J]. *Plant Physiology Bioch.*, 2015, 94: 104-113.
- [24] 张美云, 钱吉, 钟扬, 等. 野生大豆若干耐盐生理指标的研究[J]. 复旦学报, 2002, **41**(6): 669-673.
- ZHANG M Y, QIAN J, ZHONG Y, *et al.* Response of physiological indexes to salinity stress for wild soybean[J]. *Journal of Fudan University*, 2002, **41**(6): 669-673.
- [25] GZIK A. Accumulation of proline and pattern of amino acids in sugar beet plants in response to osmotic, water and salt stress[J]. *Environ. Exp. Bot.*, 1996, **36**(1): 29-38.
- [26] SUN J, CHEN S L, DAI S X, *et al.* Ion flux profiles and plant ion homeostasis control under salt stress[J]. *Plant Signaling and Behavior*, 2009, **4**(4): 261.
- [27] M'RAH S, OUERGHY Z, EYMERY F, *et al.* Efficiency of biochemical protection against toxic effects of accumulated salt differentiates *Thellungiella halophila* from *Arabidopsis thaliana* [J]. *J. Plant Physiol.*, 2007, **164**(4): 375-384.
- [28] 刘爱荣, 张远兵, 陈登科. 盐胁迫对盐芥 (*Thellungiella halophila*) 生长和抗氧化酶活性的影响 [J]. 植物研究, 2006, **26**(2): 216-221.
- LIU A R, ZHANG Y B, CHEN D K. Effects of salt stress on the growth and the antioxidant enzyme activity of *Thellungiella halophila* [J]. *Bulletn of Botanical Research*, 2006, **26**(2): 216-221.

(编辑:裴阿卫)