

不同盐浓度对芨芨草种子萌发过程中 几种生理指标的影响

王果平¹, 康喜亮², 陶 锦¹, 陈韩飞¹, 阎 平^{1*}

(1. 石河子大学生命科学学院, 新疆 石河子 832003; 2. 石河子大学农学院, 新疆 石河子 832003)

摘 要: 不同浓度的NaCl处理芨芨草种子后, 通过研究其萌发过程中淀粉酶、超氧化物歧化酶、过氧化物酶活性以及可溶性糖含量的变化。结果表明: NaCl处理下芨芨草种子萌发过程中超氧化物歧化酶、过氧化物酶活性与对照相比均上升, 且呈现双峰曲线的变化趋势。而淀粉酶活性、可溶性糖含量与对照相比均下降, 并与NaCl处理浓度呈负相关。

关键词: 芨芨草; 盐浓度; 酶活性

中图分类号: **文献标识码:**A **文章编号:** 1000-7601(2006)02-0139-04

芨芨草 (*Achantherum splendens* (frin.) Nevski) 属禾本科芨芨草属, 为多年生草本植物, 具有很强的抗盐碱性。种子能够在盐胁迫下萌发成苗, 是植株在盐碱条件下生长发育的前提, 因此, 研究盐胁迫下种子的萌发将具有重要的意义^[1]。盐胁迫通常会抑制植物的生长, 不少学者对此进行了大量的研究和探讨^[1~6]。但以往的工作大多集中在种子发芽后的各个发育阶段, 而较少涉及到植物生长发育的起始阶段——种子萌发阶段。我们分析了不同NaCl浓度处理下, 芨芨草种子萌发过程中淀粉酶、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)的活性以及可溶性糖含量的变化, 以探讨较高浓度NaCl抑制牧草芨芨草种子萌发的生理机制。

1 材料与方法

1.1 材 料

供试材料主要为芨芨草种子, 采集于石河子造纸厂实验场; 不同浓度的氯化钠溶液(自制)。主要仪器为: G2P-250型光照培养箱(上海精宏实验设备有限公司生产), S22PC型可见分光光度计(上海棱光技术有限公司生产)。

1.2 方 法

将种子消毒后, 放于盛有滤纸的洁净培养皿中进行种子培养。分别加入0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%、1.2%和1.4%浓度的NaCl溶液到饱

和为止, 清水作对照。然后各称取0.3g种子播种于上述不同浓度NaCl溶液中, 定期补充所蒸发的水分, 使各处理NaCl浓度维持不变。芨芨草种子在第2天就陆续开始萌发, 第4天时平均芽长为1.2mm, 到第8天时, 萌芽率达60%, 平均芽长升高到3.1mm, 而在第14天时, 平均芽长仅为3.7mm。在种子萌发的第4天、第8天和第14天分别选取芽长基本一致的材料, 进行如下指标的测定。每处理重复3次。淀粉酶活性采用3,5-二硝基水杨酸方法^[7]测定、可溶性糖含量选用蒽酮比色法^[7]测定、SOD和POD分别采用硝基四唑蓝还原法^[7]和愈创木酚氧化法^[7]进行测定。

2 结果与分析

2.1 盐浓度对芨芨草种子萌发过程中淀粉酶活性的变化

试验结果表明: 随着NaCl胁迫程度增加, 芨芨草种子萌发各阶段(0~4d, 4~8d, 8~14d), 其淀粉酶活性均低于对照, 且一直呈下降趋势。在种子萌发的第2阶段(4~8d), 当NaCl浓度为0.6%时, 酶活性明显降低, 高峰值下降, 当浓度达1.4%时, 淀粉酶活性几乎无变化。芨芨草种子在无NaCl胁迫下, 萌发第2阶段淀粉酶活性略有上升, 第8天后, 淀粉酶活性急速上升, 并达到最高值; 低浓度NaCl胁迫下, 淀粉酶活性在萌发过程中出现类似的变化趋势

* 收稿日期: 2005-11-25

基金项目: 新疆兵团绿洲生态重点实验室资助项目(200313)

作者简介: 王果平(1979—), 女, 山西代县人, 硕士, 从事资源植物研究, E-mail: ping112_003@163.com

通讯作者: 阎 平(1962—), 男, 新疆石河子人, 教授, 从事资源植物研究, E-mail: yanpzhw@sohu.com

(图1)。相关性分析表明:芨芨草种子萌发过程中,淀粉酶活性与NaCl胁迫浓度呈负相关(4 d 时, $r = -$

0.940** ; 8 d 时, $r = -0.972^{**}$; 14 d 时, $r = -0.888^{**}$)。

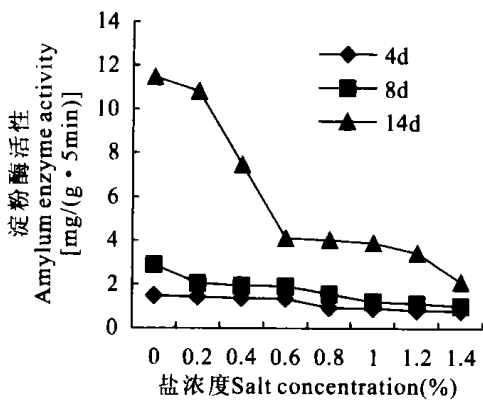


图1 不同盐浓度对芨芨草种子萌发过程中淀粉酶活性的影响

Fig.1 Effects of salt concentration on amylum enzyme activity of *Achantherum splendens* seeds during germination process

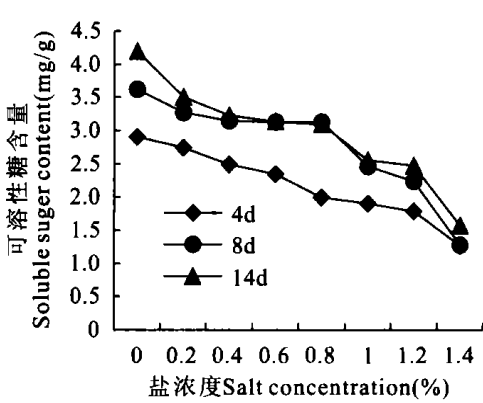


图2 不同盐浓度对芨芨草种子萌发过程中可溶性糖含量的影响

Fig.2 Effects of salt concentration on soluble sugar content of *Achantherum splendens* seeds during germination process

2.2 盐浓度对芨芨草种子萌发过程中可溶性糖含量的变化

淀粉在淀粉酶的作用下可水解为可溶性糖。在芨芨草种子萌发各阶段,不同NaCl浓度胁迫下,可溶性糖含量均呈现下降趋势,并低于对照。当NaCl浓度大于0.6%时,在种子萌发第3阶段(8~14 d)时,芨芨草种子中可溶性糖含量几乎无变化。无NaCl胁迫下,芨芨草种子在萌发的第2阶段,可溶性糖含量有所增加,而在第2阶段,可溶性糖含量增幅变小(图2)。低浓度NaCl胁迫下,芨芨草种子可溶性糖含量与对照基本呈现出同样的变化趋势,即开始急剧增加,随后缓慢上升,说明在不同浓度的NaCl胁迫下,淀粉水解受阻的程度也不同。结果表明,在芨芨草种子萌发过程中,其可溶性糖含量与NaCl胁迫浓度呈负相关(4 d 时, $r = -0.980^{**}$; 8 d 时, $r = -0.897^{**}$; 14 d 时, $r = -0.934^{**}$)。

从上述结果可以看出,芨芨草种子在萌发过程中经NaCl处理后,其可溶性糖含量和淀粉酶活性的变化趋势基本同步,但淀粉酶活性的变化在4~8 d变化缓慢,8 d后变化显著,而可溶性糖含量的变化开始较显著,8 d后可溶性糖含量变化就趋于平缓。我们认为其原因是,随着种子的进一步萌发,一方面淀粉酶活性的下降影响了可溶性糖的含量,同时可溶性糖也可能被利用、转化或合成为新的物质。

2.3 盐浓度对芨芨草种子萌发过程中超氧化物歧

化酶活性的变化

由图3可以看出,酶活力呈现双峰值,萌发第1阶段(0~4 d)浓度为0.2%达最高值,0.6%为最低值。这表明适当的NaCl浓度可促进酶活力的提高。当浓度超过0.4%时酶活力下降,到0.6%为最低,越过最低值,酶活力又有上升的趋势,但活力水平已降低。说明在高NaCl胁迫下,芨芨草种子有一个自身适应调节的阶段;酶活力总体水平较高可能是种皮的耐NaCl力强。8 d后酶活力总体水平降低,最高值出现在NaCl浓度为1.0%,此时为种子萌发的第2阶段(发芽累积量为50%)酶活力包括种皮和幼苗两部分。可以推断幼苗的耐NaCl性即抗性要比种皮弱。最高值为0.2%,0.6%为最低值,此时进入发芽的第3阶段,酶活力的峰值为0.2%和1.4%,在幼苗期,NaCl胁迫在芨芨草中仍有一个适应调节的过程(0.6%),但此时高浓度NaCl胁迫下酶活力已较对照提高不是很显著。这与卫东^[8]的研究结果一致。

2.4 盐浓度对芨芨草种子萌发过程中过氧化物酶活性的变化

由图4可以看出,在萌发前期即0~4 d内,浓度为0.4%和1.0%的过氧化物酶活力为2个峰值,在4~8d内0.6%为最高峰值,8~14 d内0.4%达最大值。浓度0.4%为萌发后期种子过氧化物酶活力的最高值,而在萌发开始浓度高,活性也高有可能是种皮的耐NaCl性较强。

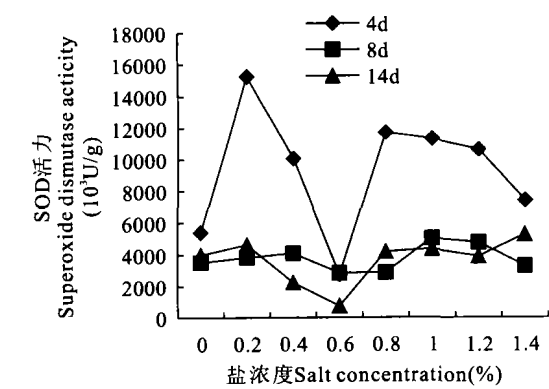


图3 不同盐浓度对茭苳草种子萌发过程中SOD酶活力的影响
Fig. 3 Effects of salt concentration on SOD enzyme activity of *Achantherum splendens* seeds during germination process

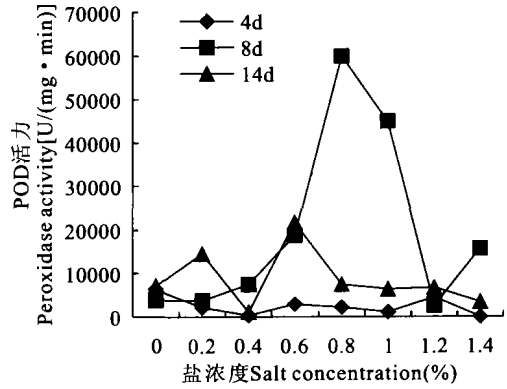


图4 不同盐浓度对茭苳草种子萌发过程中POD酶活力的影响
Fig. 4 Effects of salt concentration on POD enzyme activity of *Achantherum splendens* seeds during germination process

3 讨论

种子萌发需经历从异氧到自氧的过程,在萌芽期间种子还不能制造足够的养分,其所需的养料和能量只能动用它储藏物质的转化和利用,这些物质在种子萌发时水解成简单的营养物质,并运转到生长部位,作为构成新组织成分和产生能量的原料。正常情况下,植物种子通过水解或磷酸解的方式可以将淀粉这种不溶性的储藏物质转化为可溶性的物质,为种子萌发提供必要条件。 α -淀粉酶是一种含 Ca^{2+} 的金属酶,是水解淀粉过程中的关键酶类。茭苳草种子主要的储藏物质是淀粉,在其种子萌发过程中,伴随着吸水过程,淀粉酶活性和可溶性糖含量不断增加,即萌发第3阶段>第2阶段>第1阶段。而在茭苳草种子萌发的同一阶段,随 NaCl 浓度增加,可溶性糖含量和淀粉酶活性均呈现下降规律。在茭苳草种子萌发第3阶段(8~14 d),当 NaCl 浓度达0.6%时,其可溶性糖含量和淀粉酶活性的变化幅度趋于稳定;浓度达1.4%时,几乎无变化,并且茭苳草种子发芽率极低,种子萌发受到抑制。我们推测, NaCl 抑制茭苳草种子萌发的原因之一可能是: Na^+ 通过与淀粉酶中的 Ca^{2+} 相互作用,进而改变其活性,最终使种子内的储藏物质不能动员。同时随着盐浓度的增加,淀粉酶活性下降也影响了可溶性糖含量的增加,减弱了渗透调节的作用,进一步加重了离子毒害的程度。

盐生植物都是抗盐的,在其生长发育中需要一定的盐分,但外界环境中的盐分高于或低于其正常生长的最适浓度,盐生植物的生长和发育就会受到不同程度的影响^[4]。SOD、POD是酶促防御系统的保护酶类,其中尤以SOD最为重要,它们能够保护

酶活性的提高,防御活性氧或其它氧化物自由基对细胞膜系统的伤害,抑制膜脂过氧化,延缓细胞衰老。本实验过程中SOD、POD两种酶均呈现双峰变化趋势,SOD在盐浓度为0.6%时达到最低,我们推测这是茭苳草种子生长萌发最适宜的盐浓度,高于或低于这个浓度,SOD活性均有所上升。这一方面很可能是由于种子萌芽前后,盐处理对SOD的活性影响不同,另一方面可能是由于前期低盐浓度(<0.6%)对茭苳草种子萌发进行反馈调节,后期高盐浓度(>0.6%)下SOD活性上升可能是茭苳草种子对盐胁迫因子的一种保护性应激反应,之后随着盐胁迫程度的加深,SOD活性开始下降,表明盐胁迫对SOD产生伤害,加剧了膜脂过氧化作用。POD活性则表现出不规则波动变化,第1阶段变化最不明显,而第2阶段变化最为显著。在低盐浓度(<0.6%)下POD活性变化趋势与SOD大体一致,但变化幅度小于后者,表明盐胁迫下POD较SOD敏感。Dilley认为^[9],POD可以促进乙烯的自动催化合成或者与衰老细胞的活动相关,Ishida等^[10]也认为,随着植物细胞生长的停滞或逐渐衰老,POD活性总是显著增加。本实验中各处理SOD、POD酶活性总体上高于水处理的对照。但随着萌芽的进行, NaCl 浓度越高,对膜的伤害也越大。有报道表明:盐胁迫对SOD、POD活性有明显的抑制作用,同时也影响它们的活性,最终导致活性氧和自由基含量的上升,进一步加重盐离子的毒害作用^[5,6]。高盐浓度下,SOD、POD的活性下降,使其不能及时清除活性氧和自由基,使膜系统失去修复功能,最终使种子失去活力,萌芽率降低。我们观察到在高浓度 NaCl 胁迫下,茭苳草种子萌发及萌发后的生长受到影响,一方面可能是由于渗透胁迫而影响种子的吸水,另一方面可

能由于 NaCl 离子的毒害作用使种子膜系统的修复与细胞器的分室和重建工作受阻,阻碍了细胞内正常的生理代谢活动,但其真正的机理还有待于进一步研究。

参考文献:

[1] 孙国荣,陈月艳,关 肠,等. NaCl 胁迫下星星草种子萌发过程中有机物、呼吸作用及其几种酶活性的变化[J]. 植物研究, 1999, 19(4) : 445—451.

[2] 唐素英. 芨芨草生物学特性和抗盐性的研究[D]. 石河子:石河子大学硕士学位论文,2002.

[3] 王 静,程积民,万惠娥,等. 黄土高原芨芨草光合与蒸腾作用的初步研究[J]. 草业学报,2003, 12(6) : 47—52.

[4] 李艳华,杨敏生,王海英,等. 树木抗盐生理研究进展[J]. 河北林果研究,2000, 15(2) :189—193.

[5] 谈健康,安树青,王铮锋,等. NaCL、Na₂SO₄ 和 Na₂CO₃ 胁迫对

小麦叶片自由基含量及质膜透性的比较研究[J]. 植物学通报, 1998, (15) :82—86.

[6] Hernandez J A, Del Rio I A, Sevilla F. Salt stress — induced changes in superoxide dismutase isozymes in leaves and mesophyll protoplasts from *Vigna unguiculate*(L) [J]. Walp newphytol , 1994, 126:37—44. 75.

[7] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M], 北京:世界图书出版公司, 2000.

[8] 卫 东,忘彦荣. 芨芨草种子发芽检验方法的研究[J]. 草业科学, 1998, 15(4) :29—32.

[9] Dille D R. Biochemistry of fruit sand their products enzymes [M]. New York :Academic Press, 1970.

[10] Ishi Aetal. Cell wall-as-socisted peroxidasein cultured cell sofliverwort. *Marchantia polymorpha* L . changes of peroxida seleuelandit socialization in the cell wall [J]. Plant Cell Reports, 1985, (4) :54—55.

Effects of salt concentration on physiological characteristics of *Achantherum splendens* seeds during germination process

WANG Guo-ping¹, KANG Xi-liang²,TAO Jin¹, CHEN Han-fei¹, YAN Ping^{1*}
(¹ College of Life Science, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003, China;
² College of Agronomy, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003, China)

Abstract: The seeds of *A · splenden* (frin·) Nevski were treated with different concentration of NaCl to investigate the changes of diastase activity, SOD activity, POD activity and soluble carbohydrate content during the germinating process. The results showed: the SOD activity and POD activity of *A · splenden* were increased under salt stress, and presented a trend of double-peak curve; but the diastase activity and soluble carbohydrate content were decreased compared to the control, and had a negative correlation with salt concentration.

Key words: *Achantherum splendens*; salt concentration; enzyme activity