

3种盐胁迫对玉米幼苗生长及叶片抗氧化酶和离子累积的影响

Shabeer Ahmed^{1,2}, 沈彦合¹, 马文豪¹, 董江波¹,
屈芯宇¹, 曹颖¹, 胡尚连¹, 罗学刚²

(1.西南科技大学植物细胞工程实验室,四川 绵阳 621010; 2.西南科技大学环境与资源学院,四川 绵阳 621010)

摘要:选取2个玉米品种(金玉819和金单999),探讨了3种盐胁迫(NaCl 、 Na_2SO_4 和 NaNO_3)对玉米幼苗生长、抗氧化酶活性以及叶片中 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 累积的影响。结果表明:3种不同类型的盐胁迫均会导致玉米幼苗鲜重下降,地上部鲜重金玉819下降超过28.6%,金单999下降超过18%;盐胁迫下金玉819叶片SOD酶活上升2.1倍以上,POD酶活性最高上升4.5倍,APX最高上升2.1倍,CAT最高上升2.2倍;金单999叶片SOD酶活最高上升2.1倍,APX最高上升1.6倍,CAT最高上升1.9倍。2个基因型玉米胁迫下叶片内 Na^+ 含量上升4.5~6.3倍; NaCl 和 NaNO_3 处理下, K^+/Na^+ 比对照降低90%~93%,而 Na_2SO_4 处理下 K^+/Na^+ 下降78%~82%,金玉819和金单999的 $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ 比对照分别降低了85%~90%和92%~94%。综合分析表明 NO_3^- 引起的次生盐害对玉米生产危害较大。与金单999相比,金玉819对盐胁迫更加敏感,相同 Na^+ 浓度处理下,金玉819的鲜重和SOD酶活性下降显著且拥有较低的 K^+/Na^+ 和 $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ 值。

关键词:盐胁迫;玉米幼苗;离子累积;抗氧化酶活性

中图分类号:S513;Q945.78 **文献标志码:**A

Effects of three-salt stress on the growth of maize seedlings and the accumulation of antioxidant enzymes and ions in leaves

Shabeer Ahmed^{1,2}, SHEN Yanhe¹, MA wenhao¹, DONG Jiangbo¹,
QU Xinyu¹, CAO Ying¹, HU Shanglian¹, LUO Xuegang²

(1. Laboratory of Plant Cell Engineering, Southwest Sci. & Tech. University, Mianyang, Sichuan 621010, China;

2. College of Environment and Resources, Southwest Sci. & Tech. University, Mianyang, Sichuan 621010, China)

Abstract: In this study, two maize cultivars, Jinyu 819 and Jindan 999, were used. The effects of different salinities (NaCl , Na_2SO_4 , and NaNO_3) on the growth, biochemical and mineral contents (K^+ , Na^+ , and Ca^{2+}) accumulation in maize seedlings were investigated. The results showed that three different types of Na^+ stress led to the decrease of fresh weight of maize seedlings. The decrease in fresh weight was more than 28.6% for Jinyu 819 and more than 18% for Jindan 999. The SOD activity increased more than 2.1 times and the POD activity increased up to 4.5 times. The APX increased 2.1 times and the CAT increased 2.2 times. With Jindan 999 under the stress, the SOD activity increased up to 2.1 times, APX 1.6 times, and CAT 1.9 times. With both genotypes under the stress, Na^+ content in leaves increased 4.5~6.3 times, K^+/Na^+ decreased 90%~93% compared with that of the control, while K^+/Na^+ decreased 78%~82% under the treatment of Na_2SO_4 , and $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ of Jinyu 819 and Jindan 999 decreased 85%~90% and 92%~94%, respectively, compared with the control. The comprehensive analysis showed that the secondary salt damage caused by NO_3^- was harmful to maize production. And it was clear that Jinyu 819 was more sensitive than Jindan 999 to the salt stress. When treated with the same Na^+ concentration, the

fresh weight and SOD activity of Jinyu 819 significantly decreased and the ratio of K^+/Na^+ and Ca^{2+}/Na^+ were decreased.

Keyword: salt stress; maize seedling; ion accumulation; antioxidant enzyme activity

植物在生长发育过程中极易受到各种环境因素的胁迫。其中,在非生物胁迫中土地盐渍化会导致主要农作物减产 50%~70%^[1]。玉米(*Zea mays* L.)作为重要的禾谷类作物种植广泛程度仅次于水稻和小麦,因此充分了解玉米这一 C4 植物^[2]的耐盐性对农业生产具有重要意义。

全球气候的变化以及劣质水源的灌溉使土地盐渍化逐年加重^[3],对农业生产活动带来了巨大的挑战。盐碱地中富含大量的 NaCl,因此目前与盐胁迫相关的研究都集中在 NaCl 胁迫方面^[4-5]。而火山土壤、海水灌溉的土壤还富含硫酸盐,工业生产硫化气体的排放也会导致土壤中硫酸盐含量的增加^[6-8]。氮肥的过量施用^[9]以及含氮工业废水的排放^[10]则可能会导致土壤发生硝酸盐含量超标,引发次生盐渍化。目前关于玉米耐盐性的生理生化特性^[11]及分子机理^[12]均有大量研究。胡燕梅等^[13]研究表明,不同品种玉米在相同浓度盐胁迫条件下具有不同的萌发及幼苗生长特性。目前对玉米耐盐性的研究多采用 NaCl 溶液进行模拟^[14]。盐胁迫的作用机理主要通过渗透胁迫(进而导致氧化胁迫)和离子毒害等方面来体现^[15]。而面临越来越复杂以及多样化的土壤盐渍化情况,玉米的耐性也会不同。因此研究不同类型盐胁迫对玉米生长影响和生理响应变化具有非常重要的科研与实践意义。本研究选取 2 个玉米品种金玉 819 和金单 999,探讨 3 种盐胁迫(NaCl、Na₂SO₄ 和 NaNO₃)对玉米生长、抗氧化酶活性及 Na⁺、K⁺、Ca²⁺等离子积累的影响,为深入研究玉米的耐盐机理和不同土壤盐渍化条件下的玉米栽培^[16]提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 with 处理

选取杂交玉米品种金玉 819 和金单 999 为供试材料。将饱满一致的玉米种子清水浸泡 12 h 后,转移至由 50% Hoagland 营养液浸湿的滤纸上,置于光照培养箱内(12 h 光照/12 h 黑暗交替,25℃)进行萌发。7 d 后选取长势一致的幼苗移至内装石英砂、下部有孔的塑料盆中(39 cm×30 cm×13 cm),每盆栽植 16 株幼苗,采用 50% Hoagland 营养液置于恒温光照培养室(25℃,14 h 光照/10 h 黑暗交替,

相对湿度 60%~70%)内进行适应培养。待幼苗长到 3 叶 1 心期时,对幼苗进行胁迫处理,以纯 50% Hoagland 营养液作为对照(CK)。试验共 7 个处理,每个处理 3 盆以上,每 2 d 更换一次营养液,以保持营养充足以及盐浓度相对稳定。处理 10 d 以后,测量植株的鲜重并取样。

1.2 试验方法

将植株从营养液中取出后,拭干表面水分,用%天平分别测定地上部和地下部的鲜重。用于测定酶活性的叶片取样后经液氮冷却,置于-80℃冰箱保存备用。

酶活性测定:采用氮蓝四唑(NBT)法^[17]测定超氧化物歧化酶(SOD)活性;采用愈创木酚比色法测定过氧化物酶(POD)活性^[17];过氧化氢酶(CAT)采用紫外吸收法测定^[17];抗坏血酸过氧化物酶(APX)测定参照 Mishra^[18]等的方法;Ca²⁺测定采用纯水浸提-原子吸收光谱法;K⁺、Na⁺测定采用纯水浸提-火焰光度计法。

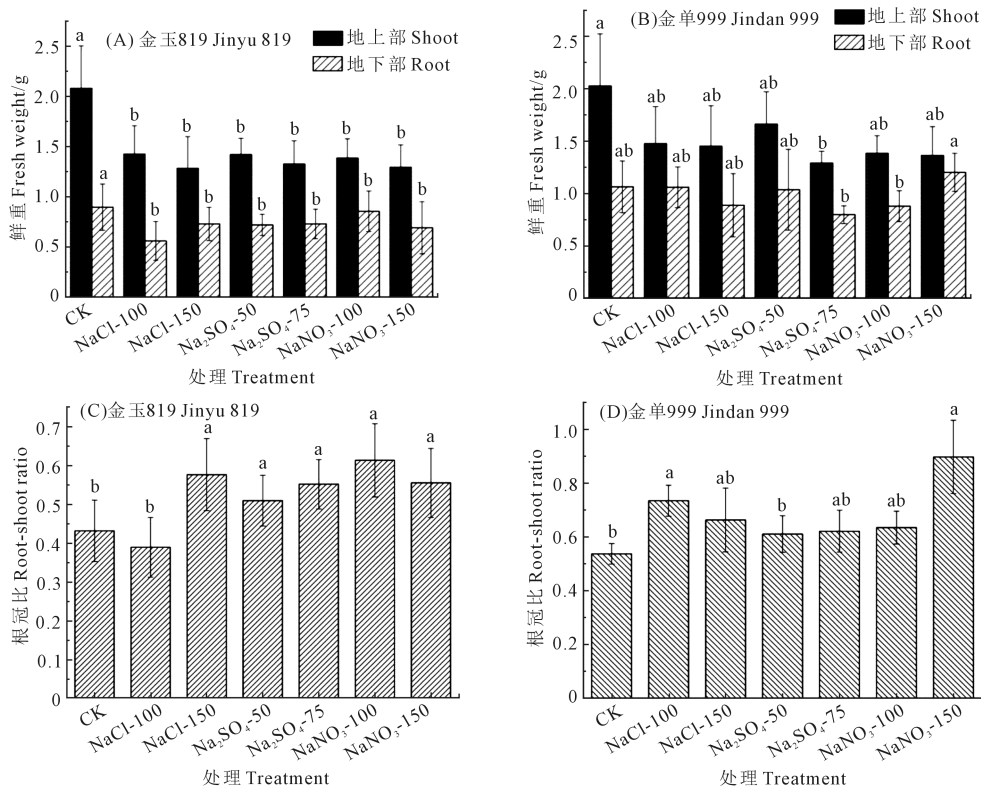
1.3 数据分析

采用 Microsoft Excel 2016 和 SPSS 21 进行数据统计和方差分析,使用 Duncan's 检验法进行多重比较,使用 Origin 8.5 进行作图。

2 结果与分析

2.1 不同盐胁迫对玉米幼苗生长和根冠比的影响

经过 3 种不同钠盐(NaCl、Na₂SO₄、NaNO₃)处理后,金玉 819 的地上部和地下部鲜重与对照相比均显著下降($P<0.05$),其中地上部鲜重下降超过 28.6%,各处理间鲜重差异不明显(图 1A);而金单 999 表现出一定的耐盐性,鲜重下降幅度较小,地上部鲜重下降超过 18%,只有 75 mmol·L⁻¹的 Na₂SO₄ 处理使地上部鲜重降低了 37.69%,达到差异显著水平($P<0.05$),其余处理较对照相比均无明显差异(图 1B)。NaCl、Na₂SO₄ 和 NaNO₃胁迫下,玉米幼苗的根冠比均显著高于对照,胁迫处理下金玉 819 除 100 mmol·L⁻¹ NaCl 处理组外,玉米幼苗的根冠比均显著高于对照;金丹 999 对照组根冠比最低,其中 100 mmol·L⁻¹ NaCl、150 mmol·L⁻¹ NaNO₃ 根冠比显著高于对照。表明玉米幼苗地上部生长对盐胁迫更敏感(图 1C,图 1D)。



注:图中不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。下同。
Note: Different lowercase letters in the figure indicate significant difference ($P<0.05$). The same below.

图 1 不同盐胁迫对玉米幼苗生物量的影响

Fig.1 Effect of different salt stress on biomass of maize seedlings

2.2 不同盐胁迫对玉米幼苗叶片中抗氧化相关酶活性的影响

如图 2 所示,在不同盐胁迫下 2 个玉米品种的 SOD 酶活性均有不同程度的上升。100 mmol · L⁻¹ Na⁺ (NaCl-100、Na₂SO₄-50、NaNO₃-100) 浓度下,金玉 819 叶片中 SOD 酶活是对照的 2.1~2.6 倍,表明盐胁迫诱导了细胞内活性氧积累,从而促进了 SOD 活性增加;而在 150 mmol · L⁻¹ Na⁺ (NaCl-150、Na₂SO₄-75、NaNO₃-150) 条件下,金玉 819 的 SOD 酶活性较 100 mmol · L⁻¹ Na⁺ 处理有所下降。100 mmol · L⁻¹ 和 150 mmol · L⁻¹ NaCl 和 NaNO₃ 处理下,金单 999 的 SOD 酶活性较高,为对照的 2.3~2.4 倍;Na₂SO₄ 处理下,随着盐浓度的提高 SOD 酶活性虽然呈增加趋势,但显著低于 NaCl 和 NaNO₃ 处理(图 2B),表明同浓度下,Na₂SO₄ 胁迫对金单 999 叶片 SOD 活性的影响小于 NaCl 和 NaNO₃ 胁迫。

如图 3 所示,3 种不同盐胁迫下金玉 819 的 POD 酶活性较对照均有显著上升,其中 75 mmol · L⁻¹ Na₂SO₄ 处理下 POD 酶活性上升幅度最大,达到对照的 4.5 倍;金单 999 对照植株的 POD 酶活性较高,达到 55.4 U · g⁻¹,因而不同盐处理后的 POD 酶活性较对照上升幅度较小,但是其 POD 酶活性的绝

对值仍然维持在较高的水平(图 3B)。

如图 4 所示,金玉 819 和金单 999 在 3 种盐胁迫后 APX 酶活性也均出现不同程度的上升,金玉 819 上升幅度大于金单 999。

金玉 819 和金单 999 在 3 种盐胁迫后 CAT 酶活性较对照均出现不同程度的上升(图 5)。其中 NaNO₃ 处理 CAT 酶活上升幅度大于 Na₂SO₄, NaCl 处理上升幅度最小。

2.3 不同盐胁迫对玉米幼苗叶片 K⁺、Na⁺、Ca²⁺ 含量的影响

如图 6 所示,在 100 mmol · L⁻¹ 和 150 mmol · L⁻¹ Na⁺ 胁迫处理后,金玉 819 和金单 999 叶片中的 Na⁺ 含量均显著升高,可达到对照的 4.5~6.3 倍。相同 Na⁺ 浓度处理下,NaCl 处理叶片 Na⁺ 积累量最高,而 Na₂SO₄ 胁迫的 2 种玉米幼苗叶片 Na⁺ 含量明显小于 NaCl 和 NaNO₃ 处理。

盐胁迫抑制玉米对 K⁺ 和 Ca²⁺ 等矿质元素的吸收和转运,阻碍其正常生长和发育。与对照相比,2 个玉米品种在 Na⁺ 含量上升的同时 K⁺ 和 Ca²⁺ 含量显著下降。与 NaCl、Na₂SO₄ 处理相比,NaNO₃ 处理植株叶片中 K⁺ 和 Ca²⁺ 含量下降最明显。150 mmol · L⁻¹ NaNO₃ 处理下金玉 819 和金单 999 叶片 K⁺ 含

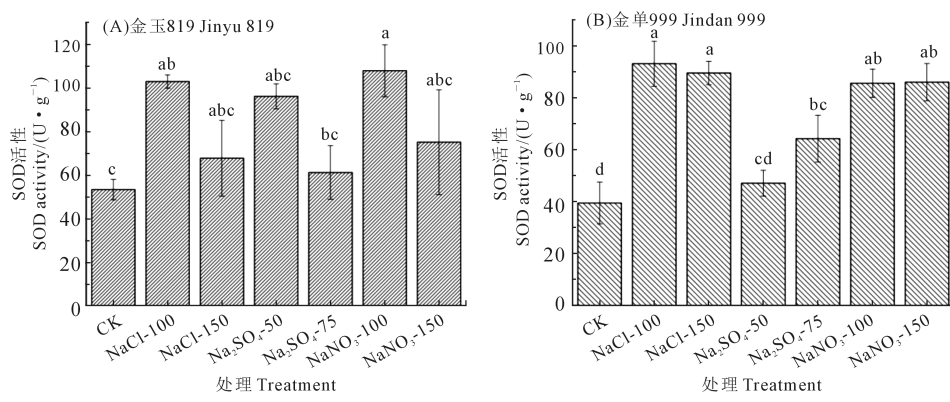


图 2 不同盐胁迫对玉米幼苗叶片 SOD 活性的影响

Fig.2 Effect of different salt stress on SOD activities of leaves of maize seedlings

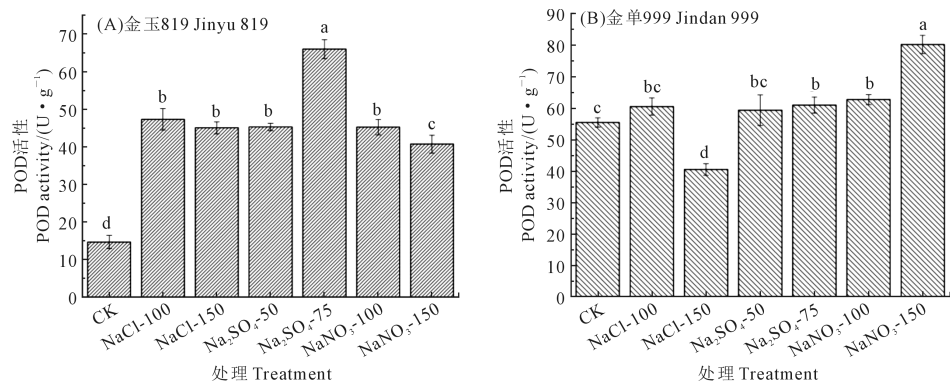


图 3 不同盐胁迫对玉米幼苗叶片 POD 活性的影响

Fig.3 Effect of different salt stress on POD activities of leaves of maize seedlings

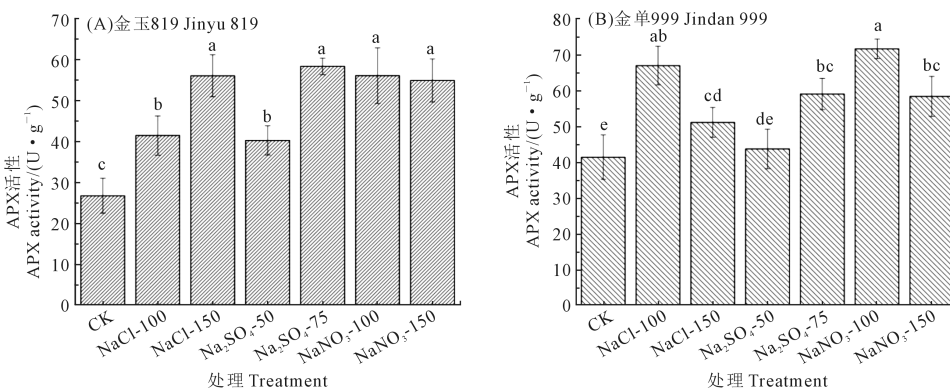


图 4 不同盐胁迫对玉米幼苗叶片 APX 活性的影响

Fig.4 Effect of different salt stress on APX activities of leaves of maize seedlings

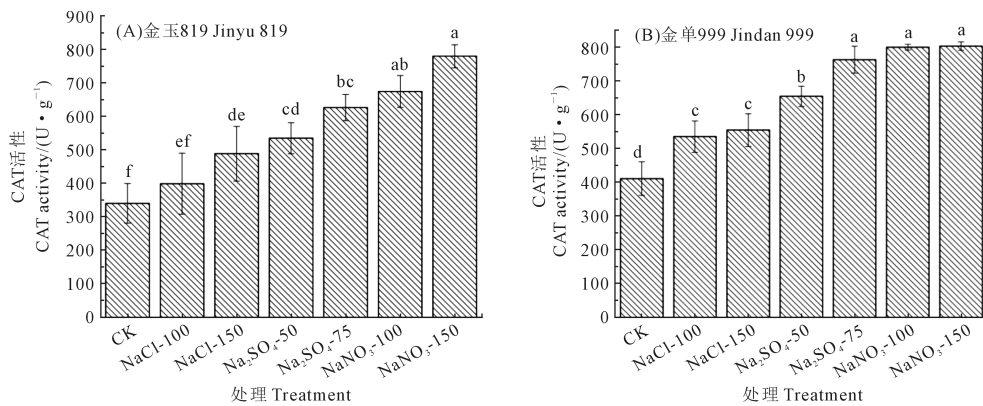


图 5 不同盐胁迫对玉米幼苗叶片 CAT 活性的影响

Fig.5 Effect of different salt stress on CAT activities of leaves of maize seedlings

量仅为对照的 38% 和 42%, 叶片 Ca^{2+} 含量仅为对照的 31% 和 35% (图 6)。

2.4 不同盐胁迫对玉米幼苗叶片 $\text{K}^{+}/\text{Na}^{+}$ 和 $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$ 的影响

如图 7 所示, 在不同盐胁迫下 2 个基因型玉米叶片的 $\text{K}^{+}/\text{Na}^{+}$ 显著降低。其中 NaCl 和 NaNO_3 处理 $\text{K}^{+}/\text{Na}^{+}$ 比对照降低 90%~93%, 而 Na_2SO_4 处理 $\text{K}^{+}/\text{Na}^{+}$ 下降幅度略小, 比对照降低 78%~82%。与 $\text{K}^{+}/\text{Na}^{+}$ 类似, 盐胁迫下 2 个基因型玉米叶片的 $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$

也显著降低, 金玉 819 和金单 999 叶片的 $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$ 比对照分别降低了 85%~90% 和 92%~94%。

3 讨 论

盐胁迫可以导致水分亏缺, 从而影响植物的代谢过程, 而生长抑制是植物对盐胁迫最直观的生理现象^[16]。 NaCl 、 Na_2SO_4 、 NaNO_3 胁迫下, 金单 999 地上部和地下部鲜重较对照下降不显著, 表明其具有一定的耐盐性。在 3 种盐胁迫下各品种玉米幼苗的

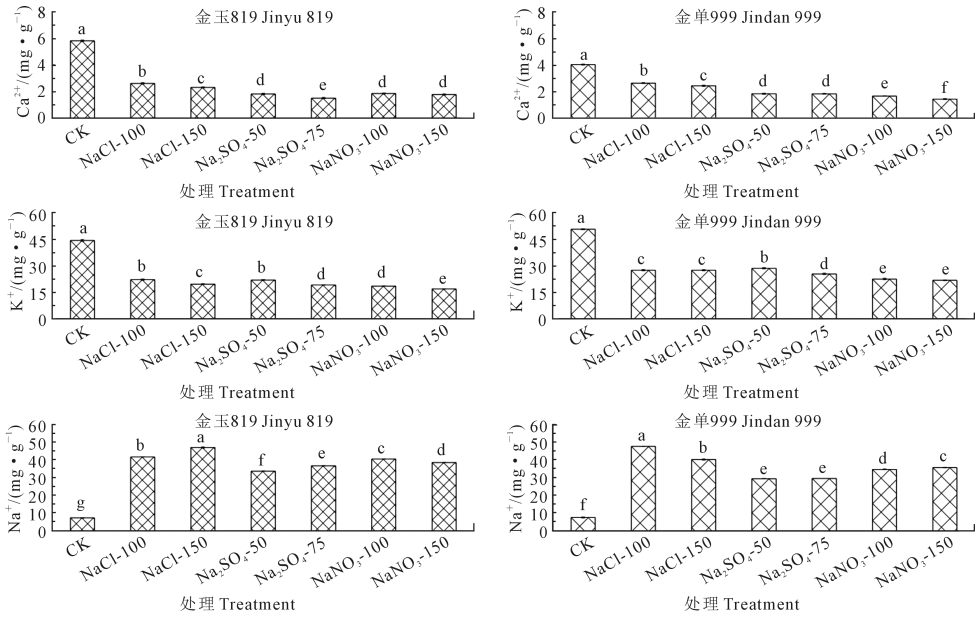


图 6 不同盐胁迫对玉米幼苗叶片 K^{+} 、 Na^{+} 和 Ca^{2+} 含量的影响

Fig.6 Effect of different salt stress on contents of K^{+} , Na^{+} and Ca^{2+} of leaves of maize seedlings

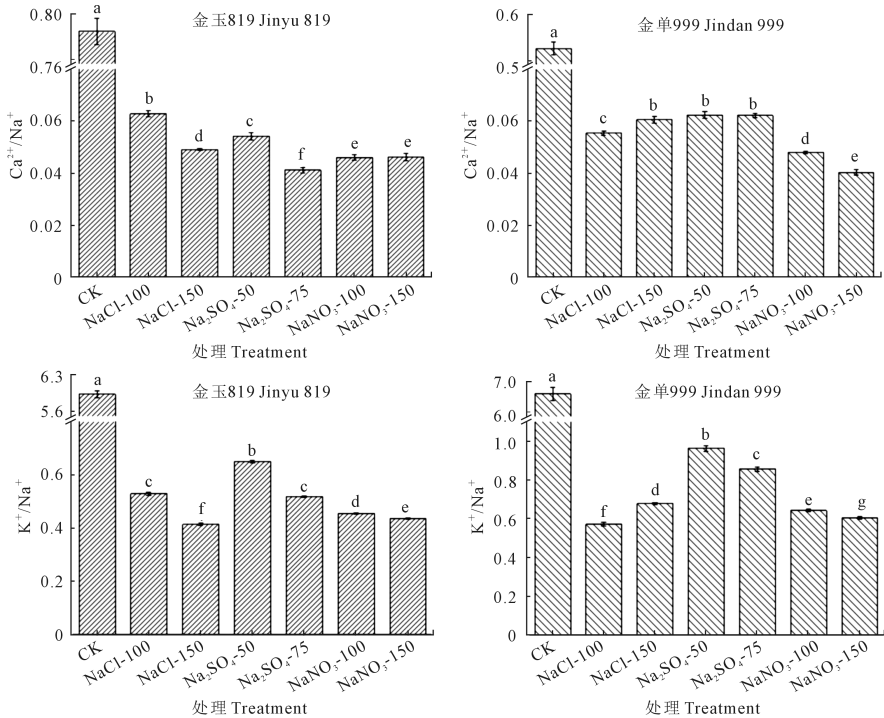


图 7 不同盐胁迫对玉米幼苗叶片 $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$ 和 $\text{K}^{+}/\text{Na}^{+}$ 比率的影响

Fig.7 Effect of different salt stress on ratios of $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$ and $\text{K}^{+}/\text{Na}^{+}$ of leaves of maize seedlings

根冠比均显著高于对照,表明玉米幼苗地上部生长对盐胁迫更敏感。

植物在盐胁迫下机体会产生大量的活性氧^[19],从而引起脂类、蛋白及DNA等生物大分子的损伤^[20]。植物为了降低和消除活性氧对机体的损害,防御氧化胁迫,会在胁迫发生时增加SOD、POD、APX、CAT等抗氧化酶的合成^[21]。通过SOD可以将氧自由基(O_2^-)转化为 H_2O_2 。POD、APX、CAT等酶则进一步将 H_2O_2 分解成 H_2O ^[22-23]。但盐浓度过高时会导致细胞膜受到伤害,酶的活性受到抑制。本研究表明,100 mmol·L⁻¹Na⁺处理下,金玉819和金单999玉米幼苗的SOD、POD、APX、CAT等抗氧化酶的活性会显著上升,但150 mmol·L⁻¹Na⁺胁迫下,金玉819的SOD酶活性出现明显下降,表明高浓度盐胁迫对细胞膜的结构造成了一定伤害,使其抗氧化能力减弱。这可能是导致金玉819比金单999对盐胁迫更敏感的原因之一。

研究表明,盐离子在植物细胞内的大量积累会引起离子毒害和离子不平衡^[19]。高浓度的Na⁺可置换细胞质膜和内膜系统的Ca²⁺,使得膜系统的完整性被破坏,细胞物质交换平衡遭到破坏^[19]。Na⁺对于细胞K⁺的吸收也呈明显的竞争性抑制^[24],从而影响细胞Na⁺、K⁺离子通道的正常运行,引发植物体的代谢紊乱。本研究发现,3种不同的钠盐均会导致玉米幼苗叶片Na⁺浓度上升,但是相同Na⁺浓度下,Na₂SO₄胁迫的玉米幼苗叶片Na⁺浓度明显小于NaCl和NaNO₃胁迫,这可能与离子的选择性吸收有关。盐胁迫下,2个基因型玉米的Na⁺含量显著上升,高浓度的Na⁺严重阻碍玉米幼苗对K⁺和Ca²⁺的吸收和运输,叶片K⁺和Ca²⁺含量显著下降。与NaCl和Na₂SO₄处理相比,同等Na⁺浓度下NaNO₃处理植株叶片中K⁺和Ca²⁺含量下降最明显,表明氮肥的过度施用引起的次生盐害是玉米生产中值得重视的问题。但就2个品种来看,相同胁迫下金单999的K⁺/Na⁺和Ca²⁺/Na⁺比例下降幅度均小于金玉819,表明金单999具有更强的盐抗性。

参考文献:

- [1] Mittler R. Abiotic stress, the field environment and stress combination [J]. Trends in Plant Science, 2006, 11(1):15-19.
- [2] 赵可夫, 李法曾. 中国盐生植物[M]. 北京:科学出版社, 1999: 322-323.
- [3] Bella C E D, Jacobo E, Golluscio R A, et al. Effect of cattle grazing on soil salinity and vegetation composition along an elevation gradient in a temperate coastal salt marsh of Samborombón Bay (Argentina) [J]. Wetlands Ecology and Management, 2014, 22(1):1-13.
- [4] Rodriguez H G, Roberts J, Jordan W R, et al. Growth, water relations, and accumulation of organic and inorganic solutes in roots of maize seedlings during salt stress [J]. Plant Physiology, 1997, 113(3):881-893.
- [5] Xiong L M, Schumaker K S, Zhu J K. Cell signaling during cold, drought, and salt stress[J]. Plant Cell, 2002, 14 (Suppl):S165.
- [6] Feichter J, Kjellstr M E, Rodhe H, et al. Simulation of the tropospheric sulfur cycle in a global climate model [J]. Atmospheric Environment, 1996, 30(10-11):1693-1707.
- [7] Freedman B, Hutchinson T C. Pollutant inputs from the atmosphere and accumulations in soils and vegetation near a nickel-copper smelter at Sudbury, Ontario, Canada [J]. Canadian Journal of Botany, 1980, 58(1):108-132.
- [8] Chang C, Sommerfeldt T G, Carefoot J M, et al. Relationships of electrical conductivity with total dissolved salts and cation concentration of sulfate-dominant soil extracts [J]. Canadian Journal of Soil Science, 1983, 63(1):79-86.
- [9] Fan Z B, Lin S, Zhang X M, et al. Conventional flooding irrigation causes an overuse of nitrogen fertilizer and low nitrogen use efficiency in intensively used solar greenhouse vegetable production [J]. Agricultural Water Management, 2014, 144(2):11-19.
- [10] Zhang Y, Shi P, Li F D. Quantification of nitrate sources and fates in rivers in an irrigated agricultural area using environmental isotopes and a Bayesian isotope mixing model [J]. Chemosphere, 2018, 208: 493-501.
- [11] 金正律, 周秋艳. 盐胁迫对不同玉米品种种子发芽及幼苗生长的影响[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(13):2989-2991.
- [12] Fu R, Zhang M, Zhao Y C, et al. Identification of salt tolerance-related microRNAs and their targets in maize (*Zea mays* L.) using high-throughput sequencing and degradome analysis [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: article 864. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00864>
- [13] 胡燕梅, 郭云贵, 姚艳, 等. 盐胁迫对玉米种子萌发及其幼苗生长的影响[J]. 江汉大学学报(自然科学版), 2017, 45(2): 137-143.
- [14] 沈丹丹, 程文, 王志武, 等. 我国玉米耐盐种质研究现状与展望[J]. 山东农业科学, 2018, 50(11):169-173.
- [15] 周红梅. 盐胁迫条件下玉米根系吸水动力和离子吸收关系的分析[D]. 烟台:鲁东大学, 2018.
- [16] 匡朴. 盐胁迫对不同耐盐性玉米品种萌发、苗期生长及产量的影响[D]. 泰安:山东农业大学, 2018.
- [17] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导:第3版[M]. 北京:高等教育出版社, 2003:121-123.
- [18] Mishra N P, Mishra R K, Singhal G S. Changes in the activities of anti-oxidant enzymes during exposure of intact wheat leaves to strong visible light at different temperatures in the presence of protein synthesis inhibitors [J]. Plant Physiology, 1993, 102(3):903-910.
- [19] 商学芳. 不同基因型玉米对盐胁迫的敏感性及耐盐机理研究[D]. 泰安:山东农业大学, 2007.
- [20] 韦朝领, 袁家明. 植物抗逆境的分子生物学研究进展[J]. 安徽农业大学学报, 2000, 27(2):204-208.
- [21] 王丽燕, 赵可夫. 玉米幼苗对盐胁迫的生理响应[J]. 作物学报, 2005, 31(2):264-268.
- [22] 谢晓红. 植物抗氧化酶系统研究进展[J]. 化工管理, 2015, (32): 99-100.
- [23] 杨舒贻, 陈晓阳, 惠文凯, 等. 逆境胁迫下植物抗氧化酶系统响应研究进展[J]. 福建农林大学学报(自然版), 2016, 45(5): 481-489.
- [24] Schroeder J I, Ward J M, Gassmann W. Perspectives on the physiology and structure of inward-rectifying K⁺ channels in higher plants: biophysical implications for K uptake [J]. Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure, 1994, 23(1):441-471.