NaCl 胁迫对甜高粱幼苗保护酶活性等生理特性的影响

吕金印[1,2]，赵 晖[1]，冯万健[1]

(1. 西北农林科技大学生命学院，陕西 杨凌 712100；
2. 中国科学院 水利部水土保持研究所黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室，陕西 杨凌 712100)

摘 要：采用不同浓度 NaCl 溶液(100 mmol/L、200 mmol/L)胁迫处理甜高粱幼苗，测定了叶片中叶绿素含量、脯氨酸含量及三种保护酶活性等生理指标。结果表明：100 mmol/L 和 200 mmol/L 处理的甜高粱幼苗质膜相对透性、脯氨酸和丙二醛含量升高；可溶性蛋白和叶绿素含量降低；保护酶系统中叶片超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性均升高，且在 100 mmol/L 浓度处理下达到最大，而过氧化物酶(POD)活性呈先升高再降低趋势。NaCl 胁迫对甜高粱幼苗的一些生理特性产生一定影响。

关键词：甜高粱；NaCl 胁迫；生理指标；抗氧化酶

中图分类号：S514.01　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1000-7601(2008)06-0133-05

土壤盐渍化是影响农业生产的主要因素之一。全球不同类型盐碱地面积已达 9.5×10^8 hm^2，约占全球可耕地面积的 10%，其中我国就有 2.6×10^7 hm^2。而且次生盐碱化问题在不断加剧，给农业生产带来严重威胁[1]。研究植物的抗盐性，筛选耐盐性农作物品种，成为未来农业发展及环境治理亟待解决的重要课题。

目前，治理和利用盐渍土主要通过两种途径：一是基于对盐渍土本身的探索，即通过化学、工程、物理和生物措施，治理和改良盐渍土，使其适应更多农作物生长；二是通过对植物耐盐机理的深入研究，使其适应盐渍土环境。在植物方面，针对盐分对植物的伤害及植物对盐渍环境的适应机理，已受到人们的重视[2,3]。不同植物耐盐性差异较大。一些植物具有很强的抗盐性，能够在高盐环境下良好生长。研究这些植物对高盐的适应性，揭示其抗盐机理，对解决世界范围的盐渍化危害问题，具有一定的理论和现实意义[4,5]。

甜高粱起源于非洲，是高粱的一个变种，也是光合效率最高的作物之一，具有较高的生物学产量。甜高粱具有抗旱、耐涝、耐盐碱、耐高温等特点。在干旱、低洼易涝和盐碱地区及土壤贫瘠的丘陵、沟壑区均可种植，因此，具有很强的适应性。甜高粱作为糖料、饲料和能源作物越来越受到人们的重视。目前对甜高粱的研究集中在品种选育、高产栽培及产业化等方面。土壤盐渍化是影响植物生长发育的主要环境因素。植物的耐盐性是一个十分复杂的反应过程，涉及组织器官结构、生理生化反应等多方面的因素。本研究以甜高粱幼苗为材料，在三叶一心期采用不同浓度 NaCl 胁迫处理。研究了甜高粱幼苗期叶片保护酶活性等相关生理指标，探讨不同浓度处理下甜高粱耐盐的生理机制，为盐碱化地区甜高粱的栽培与种植提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料与幼苗培养

选用大力士牌甜高粱种子(市售)，0.1% $HgCl_2$ 消毒 10 min，自来水中浸泡 6～8 h，摆放于培养皿中，下面铺一层滤纸，上覆纱布，保持湿润，置 25℃恒温培养箱内催芽，待根长至 3.0 cm 左右时，转移至光照培养箱内，用 Hoagland 营养液培养，昼/夜培养温度：25℃～18℃，光照时间为：14 h/d，光强为：40 $\mu mol/(m^2\cdot s)$。每天间歇性通气 4～6 h，每 2 d 更换一次营养液。

1.2 NaCl 处理

幼苗长至三叶一心时，选用生长一致的植株，分别于含 NaCl：0(CK)、100、200 mmol/L 的 Hoagland 营养液中培养，每个浓度设 3 个重复，处理 7 d 后取样测定。

1.3 方 法

1.3.1 质膜相对透性测定　采用电导仪法[6]。

收稿日期：2008-05-29
基金项目：黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室基金(10501－179)
作者简介：吕金印(1960－)，男，陕西岐山人，博士，教授，主要从事植物抗逆生理及核农学方面的研究。E-mail：Jinyinlu@163.com。

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

1.3.2 可溶性蛋白含量测定 采用考马斯亮蓝 G—250 法[6],在 595 nm 下测定吸光值。

1.3.3 叶绿素含量测定 采用 80%丙酮浸提法[6],645 nm、652 nm、470 nm 波长下测定吸光值。

1.3.4 脯氨酸含量测定 采用茚三酮比色法[6],在 520 nm 波长下测定吸光度值。

1.3.5 丙二醛含量测定 采用硫代巴比妥酸比色法[6],在 532 nm、600 nm 和 450 nm 波长处测定吸光度值。

1.3.6 保护酶活性测定

(1) 酶液提取

取各处理叶片各 0.2 g,加入预冷的提取液(50 mmol/L pH 7.8 磷酸缓冲液,内含 1%聚乙烯吡咯烷酮),在冰浴下研磨成匀浆,于 4℃下10 000 r/min 离心 15 min,上清液即为粗提酶液,用于测定 SOD、POD 和 CAT 活性。

(2) 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定

氮蓝四唑(NBT)法[6]。按实验要求加入试剂,混匀后,给空白管罩上黑色布套遮光,与其他各管同时置于4 000 Lux 日光灯下反应 30 min,反应结束后,用黑布罩盖上试管终止反应。以遮光的对照管作为空白调零,在 560 nm 波长下测定各管的吸光度。

(3) 过氧化物酶(POD)活性测定

愈创木酚显色法[6]。向试管中加入 3.5 ml 蒸馏水,0.5 ml 0.1%的愈创木酚,0.5 ml 酶液,混匀以后加入 0.5 ml 过氧化氢,另一试管中不加酶液,测量 470 nm 下的吸光值。

(4) 过氧化氢酶(CAT)活性测定

紫外吸收比色法[6]。将酶提取液分装在干燥试管中,其中一支置于 25℃下保温预热,测定酶活性,另一支在沸水浴中加热煮沸作为对照。取 10 ml 试管 4 支(3 个测定管,1 个对照管),按要求加入试剂,在 240 nm 下测定吸光度,每隔一分钟读数一次,共测 4 min。计算酶活性 1 min 内 A_{240}减少 0.1 酶量为 1 个酶活单位(U),测定时取鲜重。

1.4 数据统计

试验数据用 SPSS 16.0 软件进行方差分析(ANOVA)和 LSD 检验,数值表示用 3 次重复的平均值±标准差。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 NaCl 胁迫对甜高粱幼苗质膜相对透性的影响

从图 1 可以看出,盐胁迫植株根部和叶片的质膜相对透性明显增加。其中根部质膜相对透性变化幅度小,而叶片的质膜相对透性变化明显,说明盐胁迫对叶片的伤害比对根的伤害严重,叶片对盐胁迫更为敏感。其中,200 mmol/L 处理叶片相对透性比对照增加了 5 倍,而根部增加相对较小(66%)。

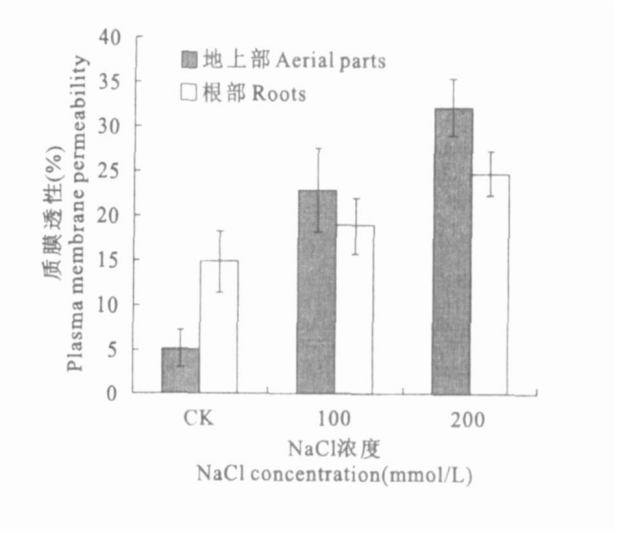

图 1 NaCl 胁迫对甜高粱幼苗质膜相对透性的影响

Fig.1 Effect of NaCl stress on plasma membrane relative permeability in leaves and roots of sweet sorghum seedlings

盐处理浓度增加,导致溶液水势降低,植物吸水减少,植物产生生理干旱。盐胁迫使细胞失水,引起细胞膨压和渗透势的变化。因此,盐胁迫最直接的影响就是对植物的渗透伤害。与此同时随着 Na^+ 和 Cl^-不断进入,细胞内的 Na^+持续增加,而 K^+外渗,植物原有的离子平衡被打破[7,8]。200 mmol/L 处理对甜高粱叶片细胞膜结构和功能造成了较大的损害。

2.2 不同浓度 NaCl 胁迫对甜高粱幼苗叶片可溶性蛋白含量的影响

结果表明(图 2),随盐胁迫程度的增加,甜高粱幼苗叶片可溶性蛋白含量降低,100、200 mmol/L NaCl 处理叶片可溶性蛋白含量分别比对照降低 17.2%、23.7%。盐胁迫破坏了细胞的有序结构。而可溶性蛋白具有高度亲水性,可保护细胞免受胁迫损害。逆境胁迫诱导蛋白基因表达,从而改变膜的水分通透性,使脱水胁迫下的细胞保持一定的膨压,有利于实现渗透调节,维持正常的生命活动[9,10]。

2.3 不同浓度 NaCl 胁迫对甜高粱幼苗叶片叶绿素含量的影响

叶绿素含量是反映植物光合作用强度的生理指标,本研究表明,NaCl 胁迫对甜高粱的叶绿素含量产生一定影响。图 3 表明,NaCl 胁迫下甜高粱幼苗

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

叶绿素 a 含量有所下降,而叶绿素 b 含量却变化不大,总叶绿素含量呈下降趋势。NaCl 胁迫下作物光合系统受到影响,主要表现在光合速率下降和叶绿体结构的破坏。Alberte 等认为,逆境胁迫下叶绿素含量降低,主要原因是叶绿体片层中捕光色素蛋白复合体合成受抑制[11]。

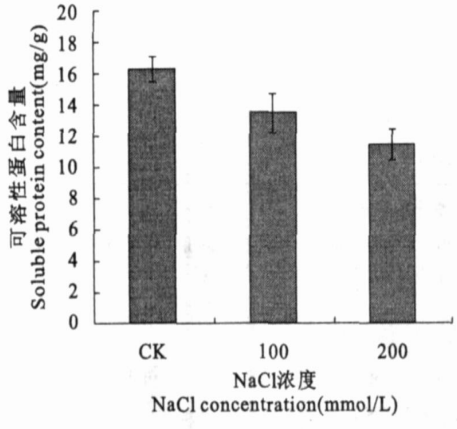

图 2　NaCl 胁迫对甜高粱幼苗叶片中可溶性蛋白含量的影响

Fig.2　Effect of NaCl stress on soluble protein content in leaves of sweet sorghum seedlings

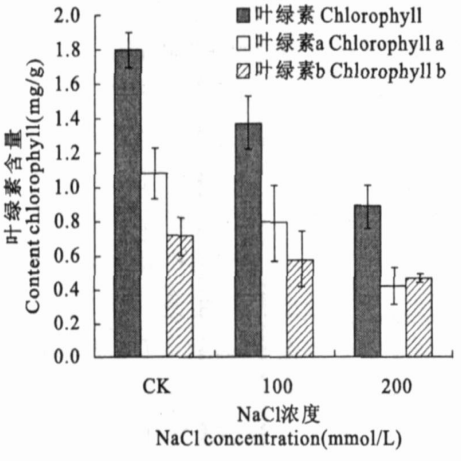

图 3　NaCl 胁迫对甜高粱幼苗叶片中叶绿素含量的影响

Fig.3　Effect of NaCl stress on chlorophyll content in leaves of sweet sorghum seedlings

2.4　NaCl 胁迫对甜高粱幼苗叶片脯氨酸含量的影响

图 4 表明,100 mmol/L 处理叶片脯氨酸含量与对照相差不大,而 200 mmol/L 处理的脯氨酸含量则是对照的 1.5 倍。含氮化合物,如脯氨酸(Pro)等游离氨基酸(FAA)为细胞保护性物质。Pro,Asn,和 Gln 等游离氨基酸的含量升高是由水分运输的减少和植物的生学反应造成的。从处理植株的表观观察,200 mmol/L 处理下水分散失相对严重。

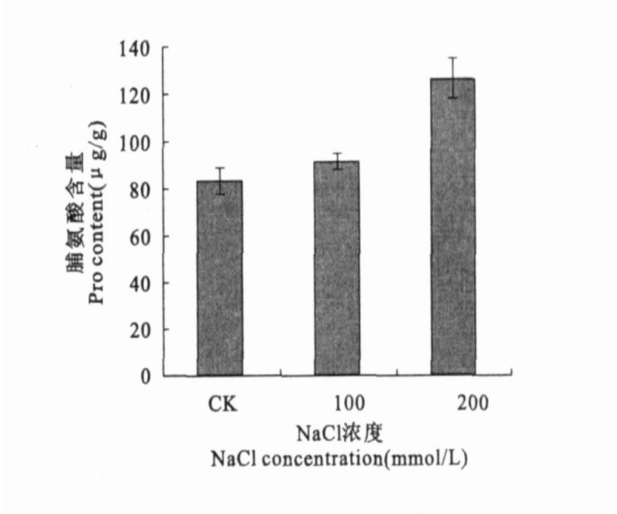

图 4　NaCl 胁迫对甜高粱幼苗叶片中脯氨酸含量的影响

Fig.4　Effect of NaCl stress on proline content in leaves of sweet sorghum seedlings

2.5　不同浓度 NaCl 胁迫对甜高粱幼苗叶片丙二醛含量的影响

图 5 结果显示,甜高粱幼苗叶片中 MDA 含量均随盐胁迫程度的增加而升高。但是 100 mmol/L 处理与对照相比变化不大,而 200 mmol/L 处理的甜高粱幼苗叶片 MDA 含量是对照的 1.3 倍。

植物在逆境下发生膜脂过氧化作用,膜结构破坏,积累有害的过氧化物。MDA 是膜脂过氧化的主要产物之一,其含量的多少可代表膜损伤的严重程度。MDA 可以与膜上的蛋白质、酶等结合,引起蛋白质分子内和分子间的交联,使之失活,破坏生物膜的结构和功能,从而表现出伤害效应[12]。

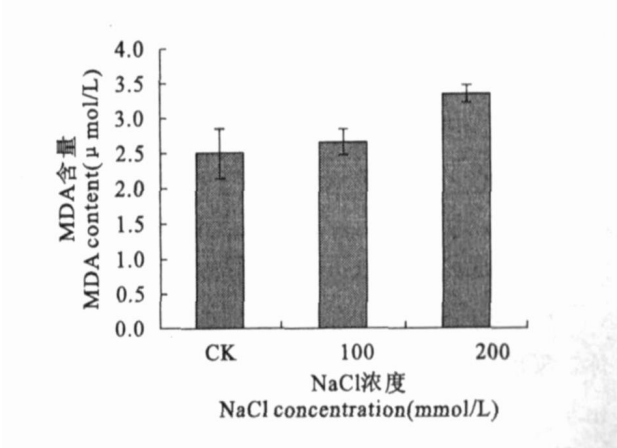

图 5　NaCl 胁迫对甜高粱幼苗叶片中丙二醛含量的影响

Fig.5　Effect of NaCl stress on MDA content in leaves of sweet sorghum seedlings

(C)1994-2025 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2.6 不同浓度NaCl胁迫对甜高粱幼苗叶片(干重)保护酶活性的影响

表1表明,两种NaCl浓度处理下SOD活性显著增加,尤其100 mmol/L NaCl处理SOD活性增幅较大($P<0.05$)。而CAT活性也随着盐胁迫程度的增加显著增加($P<0.05$),在100 mmol/L、200 mmol/L处理时增加幅度分别为18.9%、11.9%。

POD活性与对照相比,100 mmol/L处理的酶活显著增加,而200 mmol/L处理的酶活显著降低($P<0.05$)。

表1 NaCl对甜高粱幼苗保护酶系统的影响

Table 1 Effect of NaCl on activity of protective enzymes of sweet sorghum seedlings

NaCl浓度 (mmol/L)	POD 〔U/(min·g)〕	CAT 〔U/(min·g)〕	SOD 〔U/(h·g)〕
CK	106.7±7.1$_b$	194.6±21.4$_c$	114.7±34.4$_c$
100	187.2±3.4$_a$	275.8±22.5$_a$	318.4±22.4$_a$
200	85.8±5.6$_c$	231.3±18.11$_b$	217.6±15.8$_b$

注:表中数值为3个重复的平均值±标准差;同列数据标有不同字母的表示差异具有显著性(*LSD*检验,$P=0.05$).

Note: The data represent the mean ± *SD* ($n=3$); Values with different letter in the same column indicate a significant difference at $P=0.05$ according to *LSD* test.

3 讨 论

植物在逆境胁迫下会发生膜脂过氧化作用,MDA含量多少可代表膜损伤的严重程度。本研究中,随着NaCl胁迫浓度的增加,甜高粱叶片质膜相对透性和MDA含量均升高。表明该甜高粱幼苗细胞膜已经受到了伤害。尤其,200 mmol/L处理的叶片中MDA含量比对照升高了34%。根部质膜透性略增,而叶片质膜透性明显增加。NaCl胁迫引起细胞膨压和渗透势的变化。植物细胞中积累可溶性有机物质,如游离氨基酸、有机酸、可溶性碳水化合物等作为渗透调节剂进行渗透调节,以适应外界的低水势。200 mmol/L处理的叶片中可溶性蛋白含量比对照减少近1/4;100 mmol/L处理的叶片Pro含量比对照升高了10%,200 mmol/L处理叶片中Pro含量比对照升高了52%。结果表明,由于含盐量增加,导致溶液水势不断降低,植物吸水能力减少,甜高粱幼苗内产生较多的水溶性物质,以抵消Na^+和Cl^-造成的影响。

叶绿素含量是反映植物光合作用强度的生理指标。甜高粱是C4高光效植物。本研究中,两种浓度NaCl胁迫下甜高粱叶绿素含量均降低。

保护酶活性已成为作物耐盐胁迫的重要生理指标。SOD用于催化植物体内的歧化反应,使超氧自由基转化为H_2O_2和O_2,H_2O_2再通过CAT和POD分解成没有毒害的H_2O和O_2,从而使需氧植株免受伤害。CAT、POD的功能都是清除细胞内过氧化氢,然而它们在细胞中的位置和作用机理却不相同。CAT直接催化过氧化氢分解,而POD是通过催化分解其它物质间接清除过氧化氢。它们在阻断自由基链式反应中起着关键作用[13~15]。本实验中,200 mmol/L NaCl胁迫处理对此品种的甜高粱幼苗叶片保护酶系统产生了显著的影响。

史雨刚[16]等报道,在100 mmol/L和150 mmol/L两个浓度条件下,盐胁迫对SOD酶活性的影响随品种的不同而不同。与此同时,POD酶活也有类似的现象。本研究表明,SOD酶活性随盐浓度增加而升高。两种浓度NaCl胁迫下甜高粱叶片CAT活性均上升,且100 mmol/L NaCl胁迫处理下活性最大,而POD活性则在100 mmol/L NaCl胁迫下上升,高浓度胁迫下受到明显抑制。甜高粱叶片Pro含量随着NaCl胁迫浓度的增加而上升,可能是甜高粱幼苗对NaCl胁迫产生的适应性响应。

总之,两种浓度NaCl处理对甜高粱幼苗造成一定伤害,表现在细胞质膜透性和MDA含量增加。但这种伤害是有限度的,可能是胁迫初期的一种生理性反应。另一方面,甜高粱幼苗也表现出一定的抗盐性。表现在根质膜透性、叶片中叶绿素含量等变幅有限,三种保护酶活性有增有降,变化不一。表明对盐胁迫的一种积极的适应,对于不同品种在不同浓度盐处理下的耐盐性差异,还需进一步探讨。

参 考 文 献:

[1] 吕贻忠,李保国.土壤学[M].北京:中国农业出版社,2006.356-357.

[2] 赵可夫,冯立田.中国盐生植物资源[M].北京:科学出版社,2001.

[3] 杨少辉,季 静,王罡宋,等.盐胁迫对植物影响的研究进展[J].分子植物育种,2006,4(3):139-142.

[4] 黎大爵.甜高粱可持续农业生态系统研究[J].中国农业科学,2002,35(8):1021-1024.

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[5] Mamma D, Koullas D, Fountoukidis G, et al. Bioethanol from sweet sorghum: simultaneous saccharification and fermentation of carbohydrates by a mixed microbial culture[J]. Process Biochemistry, 1996,31:377－381.

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

[7] 王宝山,邹　琦,赵可夫. NaCl 胁迫对高粱成熟叶质外体和共质体中 Na^+、Ca^{2+}浓度的影响[J].作物学报,2000.846－850.

[8] 任红旭,陈　雄,孙国钧,等.抗旱性不同的小麦幼苗对水分和 NaCl 胁迫的反应[J].应用生态学报,2000,11(5):718－722.

[9] 刘开力,韩航如,徐颖洁,等.外源一氧化氮对水稻根部脂质过氧化的缓解作用[J].中国水稻科学,2005,19(4):333－337.

[10] 王　颖,杜荣骞,赵素然.高粱在盐胁迫下特定蛋白的表达及与耐盐性的研究[J].作物学报,1999,25(1):76－811.

[11] Alberte R S, Thornber J P, Fiscus E L. Water stress on thecontent and organization of chlorophyll in mesophyll and bundle sheath chlorop lasts of maize[J]. Plant Physiol, 1997,59:351－353.

[12] 李　明,王根轩.干旱胁迫对甘草幼苗保护酶活性及脂质过氧化作用的影响[J].生态学报,2001,22(4):503－507.

[13] Mittova V, Tal M, Volokit M, et al. Up-regulation of the leaf mitochondrial and peroxisomal antioxidative systems in response to salt-induced oxidative stress in the wild salt-toleranttomato species *Lycopersicon pennellii*[J]. Plant Cell Environ, 2003, 26:845－856.

[14] 李国旗,安树青,张纪林,等.盐胁迫对杨树形成层过氧化物酶活性及其效应的影响[J].应用生态学报,2003,14(6):871－874.

[15] GONG Ji rui. A comparative study on anti-oxidative ability of several desert plants under drought stress[J]. Acta Bot·Boreal·－Occident·Sin, 2004,24(9):1570－1577.

[16] 史雨刚,吴治国,马金虎.不同浓度 NaCl 胁迫对高粱幼苗 SOD、POD 酶活性的影响[J].山西农业科学,2007,35(12):71－73.

Effects of NaCl stress on activities of protective enzyme and physiological characteristics in sweet sorghum seedlings

LU Jin-yin[1,2], ZHAO Hui[1], FENG Wan-jian[1]

(1. *College of Life Sciences, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi* 712100, *China*

2. *State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Farming on the Loess Plateau, Institute of Water and Soil Conservation, Chinese Academy of Sciences and Ministry of Water Resources, Yangling Shaanxi* 712100, *China*)

Abstract: A study was made to investigate the effects of different concentrations of NaCl (100 mmol/L and 200 mmol/L) on content of chlorophyll and other physiological characteristics in sweet sorghum seedlings. The results showed that under different concentrations of NaCl, the content of proline (Pro) and malondialdehyde (MDA) increased continuously, and the same as plasma membrane permeability of sweet sorghum seedlings. However, the content of chlorophyll and soluble protein deceased gradually under NaCl treatment. The activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in sweet sorghum leaves increased, of which both reached the maximum under 100 mmol/L NaCl treatment. The activities of peroxidase (POD) was in a trend of increase first and then decrease. So the physiological characteristics of sweet sorghum seedlings were obviously affected by the two treatments of different NaCl concentration..

Keywords: sweet sorghum; NaCl stress; physiological characteristics; protective enzyme

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net