

NaCl胁迫下萝卜幼苗根系生理和细胞核形态的变化

代容春,何文锦,林荣华,张紫燕,陈由强

(福建师范大学生命科学学院,福建福州350108)

摘要:以萝卜幼苗为材料,研究了0.15 mol/L NaCl胁迫处理不同时间其根系的生长速度、活力、过氧化物酶(POD)活性和相对电导率的变化,并观察了根尖细胞核形态的变化。结果表明,随着NaCl胁迫时间的延长,萝卜幼苗根系生长速度减慢,根系活力降低,胁迫时间超过48 h时,二者均迅速下降,表现得更为明显;萝卜幼苗根系POD活性和相对电导率则不断增大,胁迫48 h时达到最大,之后POD活性迅速降低,相对电导率随之降低;根尖细胞核由原来规则的圆形转变为各种不规则形状,出现不同程度的凋亡特征。

关键词:萝卜;NaCl胁迫;生理指标;根尖细胞;核形态

中图分类号: S631.1; S311 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-7601(2012)06-0124-04

随着全球水资源危机以及土壤盐渍化问题的加剧,盐胁迫已经成为影响植物生长和作物减产的主要限制因素之一。据估计,全世界约有超过20%的农业灌溉土地受到盐渍化危害,中国有超过16个省约 2.7×10^7 hm²的土地盐渍化,其中 7×10^6 hm²为农田^[1-2]。并且由于人口增长、工业发展、不合理农业灌溉和施肥等原因,次生盐碱化土壤面积还在继续扩大^[3-4]。盐胁迫对植物生长的影响主要表现为降低根系活力,使植物叶片焦枯提早衰亡,降低生物产量的积累^[5]。但是长期以来,多数研究人员只关注植物地上部对盐胁迫的生理反应,对地下部根系的变化研究不够重视^[6]。另外由于根系生长的特殊性及其研究技术手段的局限性,对根系的研究甚少,特别是有关盐胁迫对根系影响的研究更少^[7-9]。因此研究盐胁迫对植物根系的影响在植物的抗盐性研究中具有重要意义。

萝卜(*Raphanus sativus* L.)为十字花科(Cruciferae)萝卜属(*Raphanus* L.)一、二年生草本植物^[10]。对盐碱有较强的抗性,是中国主要蔬菜之一。中国栽培的萝卜在植物学上统称为中国萝卜,自古就盛行,明代时已遍及全国。前期研究表明,NaCl胁迫48 h的条件下萝卜幼苗的耐受极限浓度为0.20 mol/L(另文发表)。为进一步研究萝卜幼苗根系在较强胁迫下发生的变化,选择0.15 mol/L作为胁迫浓度,探讨NaCl处理不同时间对萝卜幼苗根系生长活力、过氧化物酶(POD)活性和相对电导率等生理指标以及对萝卜幼苗根尖细胞核形态变化的影响,

旨在为探索萝卜的耐盐机理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

萝卜(*Raphanus sativus* L.)种子为马耳早萝卜,购自福州永荣种子公司。

1.2 材料处理

选取籽粒较为饱满的萝卜种子,用蒸馏水冲洗3~4次,26℃恒温下浸种24 h。用蒸馏水冲洗已浸泡的种子,分装在垫有2层滤纸的培养皿中,26℃恒温下培养,每天光照12 h,光强 $35 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。每天定时用蒸馏水冲洗种子和发芽的幼苗,最后浇入适量蒸馏水,以保持培养皿内有适当的水浸没种子。待根长到1~2 cm时,将幼苗转入新的培养皿中,用0.15 mol/L的NaCl溶液分别处理12 h、24 h、36 h、48 h、60 h和72 h,以蒸馏水处理作为对照,每隔12 h换一次溶液。每个处理重复3次。在胁迫完成后,分别取每个处理的幼苗根系进行相关指标的测定,并取根尖进行细胞核形态的观察。

1.3 实验方法

1.3.1 NaCl胁迫下萝卜幼苗根系生理指标的测定

根系生长速度测定,分别在NaCl胁迫处理前后测其主根长,每处理测20株,求平均长度,计算净生长长度,再计算生长速度,以cm/d表示。

根系活力测定采用 α -萘胺氧化法^[11],以每克鲜重根系每小时氧化 α -萘胺的量表示。

过氧化物酶(POD)活性测定采用比色法^[11]。

收稿日期:2012-06-20

基金项目:福建省教委资助项目(JB10016)

作者简介:代容春(1973—),女,福建仙游人,副教授,硕士,主要从事植物生理学和植物细胞工程研究。E-mail: biodrc@fjnu.edu.cn。

在比色皿中加入反应底物和酶提取液,于分光光度计 470 nm 波长下测量 OD 值,以每克鲜重根系每分钟 OD 变化值表示酶活性大小,也可用每分钟内 A470 变化 0.01 为 1 个 POD 活性单位(U)表示。

相对电导率使用 DDS-11C 电导率仪(上海雷磁仪器厂生产)测定。准确移取 20.0 mL 蒸馏水置于具塞试管中,测电导率(E_0);称取 0.20 g 根,放入试管使其完全浸没于蒸馏水中,室温放置 6 h,测电导率(E_1);之后沸水浴 10 min,冷却后测电导率(E_2),并计算各根系的相对电导率(E)。 $E = (E_1 - E_0) / (E_2 - E_0) \times 100\%$

1.3.2 NaCl 胁迫下萝卜幼苗根尖细胞核形态的观察 剪处理后的萝卜根尖约 1 cm,放入盛有卡诺固定液的小烧杯中固定 8~24 h。将固定好的根尖依次通过 90%、80% 和 70% 乙醇漂洗。后用解离液(浓盐酸:乙醇 = 1:1)解离,待根尖变软透明时即可(一般 10 min 左右)。再用蒸馏水漂洗 3 次后用改良石炭酸品红染色 15 min。最后压片,将根尖压散开制成临时装片^[12]。将压好的片子置于光学显微镜下放大 100 倍观察,并用显微成像拍摄系统进行拍照。

1.4 数据处理

所有实验数据采用 Microsoft Excel 和 SPSS 17.0 软件进行处理。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫对萝卜幼苗根系生长的影响

由图 1 可以看出,用 0.15 mol/L 的 NaCl 溶液处理萝卜幼苗,幼苗根系生长速度随处理时间延长而逐渐减慢,处理超过 48 h 则根系生长速度迅速变小。对照组根系生长速度变化不大,72 h 内差异不显著。另外还观察到,当处理达 48 h 时,萝卜根开始出现腐烂,处理 60 h 时,根腐烂数量增多,到 72 h 时,约半数的根出现腐烂。同时,随 NaCl 处理时间延长,根毛数量减少,长度变短。说明在 NaCl 胁迫下,根系生长明显受到抑制。

2.2 NaCl 胁迫对萝卜幼苗根系活力的影响

根系与植物的生长和产量的形成有密切的关系。由图 2 可见,随着 NaCl 处理时间的增加,萝卜幼苗根系活力呈现递减的趋势。在 NaCl 处理 48 h 内根系活力下降较少,之后,根系活力较迅速下降,而对照组根系活力相对恒定,说明超过 48 h 的胁迫对萝卜幼苗的根系损害严重,直接破坏根系的脉络,使根系活力降低,从而影响根系对水分及各种养分的吸收。

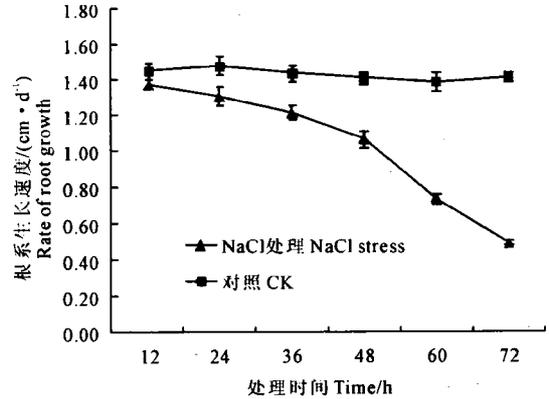


图 1 NaCl 处理不同时间对萝卜幼苗根系生长的影响
Fig.1 Effect of NaCl stress on root growth of *Raphanus sativus* L. seedlings

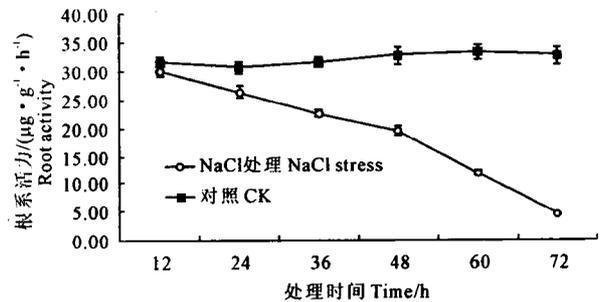


图 2 NaCl 处理不同时间对萝卜幼苗根系活力的影响
Fig.2 Effect of NaCl stress on root activity of *Raphanus sativus* L. seedlings

2.3 NaCl 胁迫对萝卜幼苗根系过氧化物酶(POD)活性的影响

由图 3 可知,在 0.15 mol/L NaCl 处理 48 h 内 POD 活性随着处理时间的延长而增强,超过 48 h, POD 活性迅速下降至最低点,而对照组 POD 活性一直保持在最低点。推测短时间的 NaCl 胁迫会使得萝卜根部组织中活性氧增多,此时,保护酶系统能够清除活性氧,故一定时间内 POD 活性逐渐加强;当 NaCl 处理超过 48 h 时,可能对植株造成不可逆的伤

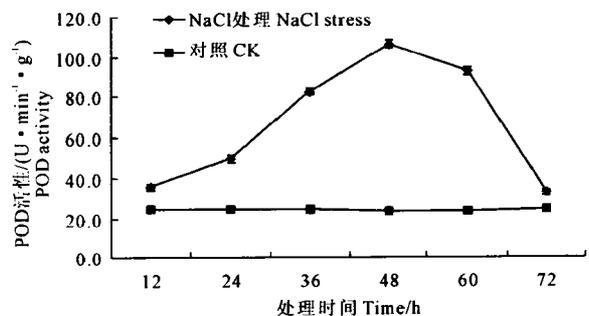


图 3 NaCl 处理不同时间对萝卜幼苗根系过氧化物酶(POD)的影响
Fig.3 Effect of NaCl stress on POD activity in roots of *Raphanus sativus* L. seedlings

害,体内清除活性氧的酶系统遭受破坏。

2.4 NaCl胁迫对萝卜根系相对电导率的影响

如图4,0.15 mol/L NaCl处理48 h内,相对电导率逐渐增大,之后相对电导率下降。可能是萝卜幼苗根部细胞在一定范围内随着NaCl胁迫浓度的增加,其膜透性不断增大,当处理时间超过48 h时,根部细胞陆续死亡,表现为细胞丧失膜的半透性,细胞内含物在测定相对电导率时浸泡之前流失,相对电导率急剧下降。对照组根部细胞质膜完好,具半透性,相对电导率保持不变。

2.5 NaCl胁迫下萝卜幼苗根尖细胞核形态的变化

从图5可以看到,对照组(图5-1)中细胞外形规则,核呈圆形且染色边缘清晰,染色较深的颗粒状物质均匀分布在细胞核内。在处理组(图5-2~6)中随着NaCl处理时间的延长,细胞核由原来规则的圆形变为各种不规则形状,有的染色质明显凝集到

核膜的边缘,有的浓缩成三角形、弯月形等。随NaCl处理时间的延长细胞核越缩越小,染色越变越深,出现了不同程度的凋亡特征,在NaCl处理60~72 h时还可观察到空的已死亡细胞。

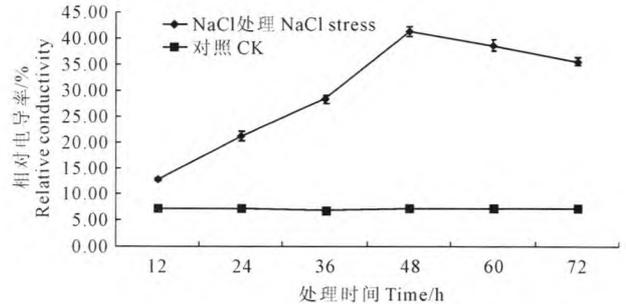
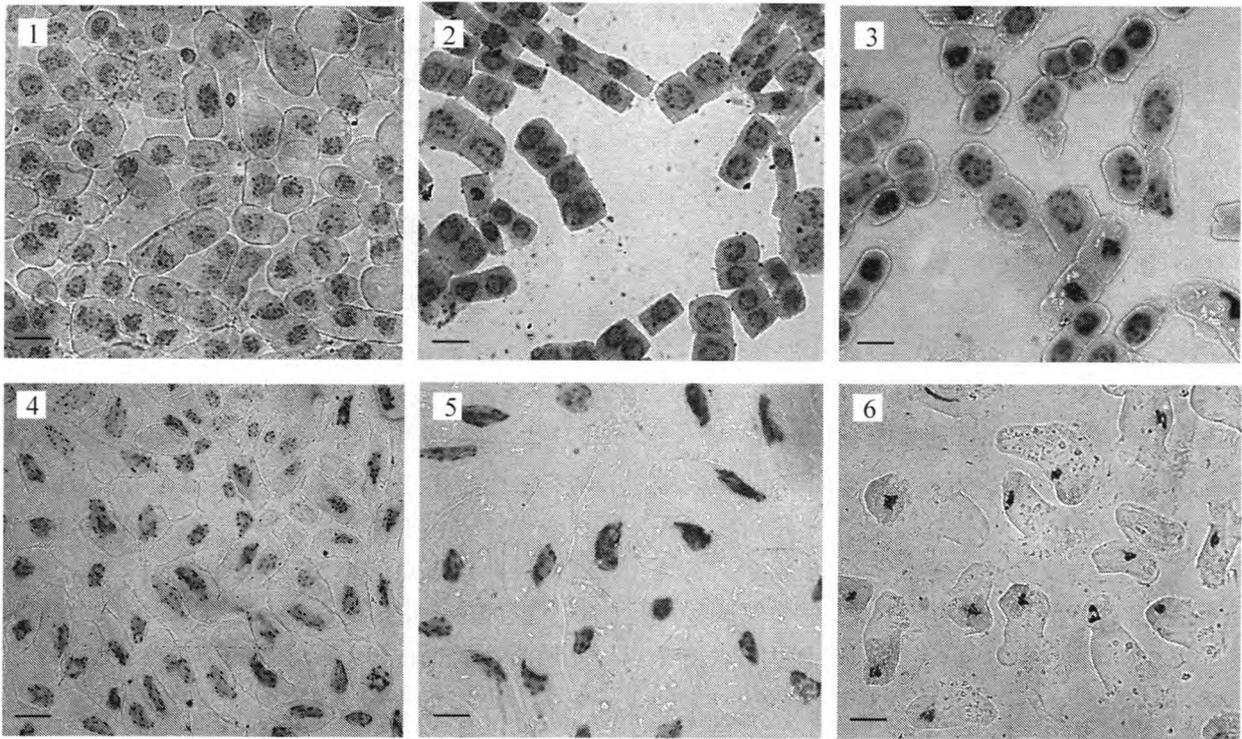


图4 NaCl处理不同时间对萝卜幼苗根系组织细胞电导率的影响

Fig.4 Effect of NaCl stress on relative conductivity in roots of *Raphanus sativus* L. seedlings



注 Note:1: 对照(CK); 2: 12 h; 3: 24 h; 4: 36 h; 5: 48 h; 6: 60~72 h

图5 NaCl胁迫对萝卜根尖细胞核形态的影响(标尺杆=20 μm)

Fig.5 Effect of NaCl stress on nuclear morphology in apical cells of *Raphanus sativus* L. seedlings (Scale bar = 20 μm)

3 讨论

盐胁迫是影响植物生长发育的一个重要环境因子,研究植物的抗盐机理,寻找提高植物抗盐性的途径,对抗性育种以及盐碱地的重新利用具有重要的意义。盐胁迫下,植物根系是最早、最直接的受害部位,其生长发育状况和活力强弱对植物的耐盐能力至关重要^[13-14]。本研究以普遍种植的萝卜为材料,探讨0.15 mol/L NaCl处理不同时间对萝卜幼苗

根系生长活力、过氧化物酶(POD)活性和相对电导率等生理指标以及对萝卜幼苗根尖细胞核形态变化的影响。结果显示NaCl胁迫直接影响着萝卜幼苗根系4种生理指标以及根尖细胞核形态的变化。

在0.15 mol/L NaCl胁迫下,萝卜幼苗根系的生长随胁迫时间的延长而生长速度减慢,伴随有根毛大量减少,根生长畸形、腐烂现象。根系生长速度减慢的同时,根系活力也逐渐降低,胁迫时间超过48 h时表现尤为明显,根系活力迅速下降。根系活力是

反映根系生命活动的生理指标,其大小直接影响着植物根系对营养物质的吸收^[15-16]。NaCl胁迫下萝卜幼苗根系活力与根系生长呈现相同的变化趋势,这与韩春梅等的研究相一致^[17]。

细胞中生物活性氧的积累是盐胁迫造成细胞伤害乃至死亡的主要原因,而细胞中清除活性氧的保护酶系统的活性增强,使细胞免于损伤或抗性增强的主要机制之一^[18-20]。细胞膜是产生原初胁迫和次级胁迫反应的主要部位。当植物处于各种逆境下,细胞内大量的不饱和脂肪酸在生物自由基的作用下,易诱发膜脂过氧化,从而使膜的透性增强,离子外渗^[21-23]。本研究结果表明,随NaCl胁迫时间的延长,萝卜根系POD活性和相对电导率不断增强和增大,胁迫48h时达到最大,之后POD活性迅速降低,相对电导率亦随之降低。出现这一变化的可能原因是48h以上的NaCl胁迫已超过幼苗根系的耐受能力。

通过对根尖细胞形态学观察,得到该系列胁迫诱导萝卜幼苗产生程序性细胞死亡(PCD)过程的特征变化,从而对不良环境做出反应。对于为什么会触发这一变化以及如何触发的,有待于进行更加深入的研究。

参考文献:

- [1] Flowers T J, Yeo A R. Breeding for salinity resistance in crop plants [J]. Aust J Plant Physiol, 1995, 22(6): 875-884.
- [2] 张艳琳. 植物耐盐生理及分子机制的研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(26): 12399-12400, 12402.
- [3] 赵可夫. 植物抗盐生理[M]. 北京: 中国科学出版社, 1993: 1-320.
- [4] 黄毅, 张玉龙. 保护地生产条件下的土壤退化问题及其防治对策[J]. 土壤通报, 2004, 35(2): 212-216.
- [5] 陈炳东, 黄高宝, 陈玉梁, 等. 盐胁迫对油菜根系活力和幼苗生长的影响[J]. 中国油料作物学报, 2008, 30(3): 327-330.
- [6] 王巨媛, 张敏, 郑丽英, 等. 盐胁迫对天门冬根系生理指标的影响[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(4): 45-46.
- [7] 苗海霞, 孙明高, 夏阳, 等. 盐胁迫对苦楝根系活力的影响[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2005, 36(1): 9-12, 18.
- [8] 刘静, 王庆祥. NaCl和NaHCO₃胁迫对玉米幼苗根系的影响[J]. 杂粮作物, 2010, 30(1): 19-21.
- [9] 林莺, 范海. 盐胁迫对二色补血草根活力影响[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(27): 16596-16600.
- [10] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第33卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 36-39.
- [11] 张志良, 瞿伟菁, 李小方. 植物生理学实验指导[M]. 4版. 北京: 高等教育出版社, 2009: 21-23, 58-61, 227-229.
- [12] 刘祖洞, 江绍慧. 遗传学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 208-212.
- [13] 杨静, 陈金林, 徐柏森, 等. 盐胁迫对美国白蜡和滨梅根系超微结构的影响[J]. 西南林学院学报, 2009, 29(5): 23-27.
- [14] 王素平, 郭世荣, 李璠, 等. 盐胁迫对黄瓜幼苗根系生长和水分利用的影响[J]. 应用生态学报, 2006, 17(10): 1883-1888.
- [15] 李元, 王焕校, 吴玉树. Cd、Fe及其复合污染对烟草叶片几项生理指标的影响[J]. 生态学报, 1992, 12(2): 147-154.
- [16] 刘鹏, 张艳英, 吴玉环, 等. 铜胁迫对烟草养分吸收和根系生理的影响[J]. 浙江师范大学学报(自然科学版), 2009, 32(4): 442-447.
- [17] 韩春梅, 贺阳冬, 刘德万. 铝胁迫对大白菜种子萌发及幼苗根系生理生化指标的影响[J]. 长江蔬菜, 2009, (22): 43-44.
- [18] 王景艳, 刘兆普, 刘玲, 等. 盐胁迫对长春花幼苗生长和生物碱含量的影响[J]. 应用生态学报, 2008, 19(10): 2143-2148.
- [19] Scandalios L G. Oxygen stress and superoxide dismutase[J]. Plant Physiology, 1993, 101(1): 7-12.
- [20] Foyer C H, Descourvieres P, Kunert K J. Protection against oxygen radicals: an important defense mechanism studied in transgenic plants[J]. Plant Cell Environment, 1994, 17(5): 507-523.
- [21] 宁顺斌, 宋运淳, 王玲, 等. 低盐胁迫诱导玉米根尖细胞凋亡的形态和生态证据[J]. 植物生理学报, 2002, 26(3): 189-194.
- [22] 周虹, 范巧佳, 郑顺林, 等. 春季水分胁迫对川芎叶片相对含水量及保护酶活性的影响[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(2): 132-137.
- [23] Verma S, Mishra S N. Putrescine alleviation of growth in salt stressed Brassica juncea by inducing antioxidative defense system[J]. Journal of Plant Physiology, 2005, 162(6): 669-677.

Effects of NaCl stress on physiological characteristics and nuclear morphology in roots of *Raphanus sativus* L. seedlings

DAI Rong-chun, HE Wen-jin, LIN Rong-hua, ZHANG Zi-yan, CHEN You-qiang

(College of Life Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou, Fujian 350108, China)

Abstract: Using *Raphanus sativus* L. seedlings as material, root growth rate, root activity, POD activity and relative conductivity in roots were tested under 0.15 mol/L NaCl stress for different time, and nuclear morphological alteration of apical cells was also observed. The results showed that root growth rate and root activity of *Raphanus sativus* L. seedlings declined with the extension of NaCl stress, and they both declined rapidly when stress time was over 48 h. In contrast, POD activity and relative conductivity in roots increased constantly to the max during the NaCl stress by 12 h to 24 h, and then both declined when stress time was extended. Nuclear morphology in apical cells varied from circle to irregular shapes, and the characteristics of apoptosis appeared in different degrees.

Keywords: *Raphanus sativus* L.; salt stress; physiological characteristics; apical cell; nuclear morphology