

DOI: 10.5846/stxb201304190747

李志萍, 张文辉, 崔豫川. NaCl 和 Na₂CO₃ 胁迫对栓皮栎种子萌发及幼苗生长的影响. 生态学报, 2015, 35(3): 742-751.

Li Z P, Zhang W H, Cui Y C. Effects of NaCl and Na₂CO₃ stresses on seed germination and seedling growth of *Quercus variabilis*. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(3): 742-751.

NaCl 和 Na₂CO₃ 胁迫对栓皮栎种子萌发及幼苗生长的影响

李志萍, 张文辉*, 崔豫川

天津师范大学, 生命科学学院, 天津市动植物抗性重点实验室, 天津 300387

摘要: 为了阐明栓皮栎种子萌发期对盐碱胁迫的耐受性, 研究了不同浓度 (0、50、100、200 和 400 mmol/L) NaCl 和 Na₂CO₃ 胁迫对其种子萌发、生长、保护酶活性和有机渗透调节物质等的影响, 结果表明: (1) 盐碱胁迫对栓皮栎种子的萌发率和发芽指数均没有显著影响; 随着 Na⁺ 浓度的升高, NaCl 和 Na₂CO₃ 处理下的胚根长度、胚根生长速率、胚根鲜重均受到抑制, 呈现下降趋势; 活力指数和耐盐指数在 NaCl 胁迫下表现为较低浓度 (50 mmol/L) 促进, 较高浓度 (100, 200, 400 mmol/L) 抑制, 而在 Na₂CO₃ 处理下则不断下降; 相对盐害率在两种处理下均表现波动趋势。 (2) 通过建立活力指数、胚根长度等与 Na⁺ 浓度的回归方程, 发现在 NaCl 胁迫下栓皮栎种子活力指数、胚根鲜重、胚根长度和胚根生长速率的临界值分别为 300.0、300.0、333.6、369.6 mmol/L。 (3) 在 NaCl 和 Na₂CO₃ 胁迫下, 随 Na⁺ 浓度的增加, 丙二醛含量增幅显著; NaCl 处理下的 SOD (superoxide dismutase) 活性呈现先升高后降低的趋势, 而 Na₂CO₃ 处理下则均低于对照; POD (peroxidase) 活性变化不显著; CAT (catalase) 活性均表现为先降低后升高; 脯氨酸、可溶性蛋白和可溶性糖含量均随着 Na⁺ 浓度的升高而呈现不同程度上升趋势。 (4) 等 Na⁺ 浓度时, NaCl 处理下的各项生长指标均高于 Na₂CO₃ 处理, 丙二醛、保护酶活性及渗透调节物质含量均低于 Na₂CO₃ 处理, 说明 Na₂CO₃ 对栓皮栎种子的影响比 NaCl 更为显著。

关键词: 栓皮栎; 种子; 萌发; 盐碱胁迫; 保护酶

Effects of NaCl and Na₂CO₃ stresses on seed germination and seedling growth of *Quercus variabilis*

LI Zhiping, ZHANG Wenhui*, CUI Yuchuan

Tianjin Key Laboratory of Animal and Plant Resistance, College of Life Sciences, Tianjin Normal University, Tianjin 300387, China

Abstract: Choosing fresh cork oak seeds and using Petri dish and filter paper germination method, the NaCl and Na₂CO₃ resistant potential of *Quercus variabilis* seeds with five different NaCl and Na₂CO₃ concentrations (0, 50, 100, 200 and 400 mmol/L) were examined. During the experimental process, the seed germination, radicle growth, three protective enzyme (SOD, POD, CAT) activities and the organic osmoregulation substances (proline, soluble protein and soluble sugar) were all measured, and the correlation between the seed germination, radicle growth rate under NaCl and Na₂CO₃ stress were analysed. The results showed that: (1) NaCl and Na₂CO₃ stress had no significant impact to seed germination rate and germination index, even under high Na⁺ concentration (200 mmol/L) stress, seed germination rate was still higher than contrast. With the addition of Na⁺ concentration, radicle length, radicle growth rate and fresh weight of radicle under two kinds of stresses presented the downward trend. The vigor index and salt tolerance index under NaCl stress increased at the lower concentrations (50 mmol/L) and then decreased at the higher concentrations (100, 200 and 400 mmol/L), but they

基金项目: 国家林业局林业公益性行业专项 (201104011); 国家自然科学基金项目 (30872018)

收稿日期: 2013-04-19; 网络出版日期: 2014-04-03

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zwhckh@163.com

both declined under Na₂CO₃ treatment. Relative salt-harmed rate waved under two stresses, they were lower than the contrast under 50 and 200 mmol/L Na⁺ concentration, but were higher under 100 and 400 mmol/L Na⁺ concentration. (2) The regression equation between vigor index, radicle growth rate and different concentrations of NaCl and Na₂CO₃ stress were found, and they showed that the critical value of the vigor index, fresh weight of radicle, radicle length and radicle growth rate under NaCl stress, were 300.0, 300.0, 333.6 and 369.6 mmol/L respectively, they were 69.0, 67.2, 182.0, 187.5 mmol/L respectively under Na₂CO₃ stress. (3) Under two kinds of stresses, with the increase of Na⁺ concentration, MDA (malondialdehyde) content increased significantly; SOD (superoxide dismutase) activity decreased after increasing under NaCl treatment, but they were all lower than the contrast under Na₂CO₃ treatment; POD (peroxidase) activity had no significant change, CAT (catalase) activity was down and then rose. Proline, soluble protein and soluble sugar contents were increased in varying degrees with the addition of Na⁺ concentration, they were to the maximum under the largest concentration of NaCl treatment, and they were all higher than the contrast under Na₂CO₃ treatment. (4) Under the same Na⁺ concentration stress, the growth indicators such as seed germination rate, germination index, radicle length, radicle growth rate and fresh weight of radicle under NaCl treatment were all higher than that of Na₂CO₃ treatment, malondialdehyde, protective enzymes (SOD, POD, CAT) activities and osmotic adjustment substances (proline, soluble protein and soluble sugar) contents were all lower than that of Na₂CO₃ treatment, which showed the effects of Na₂CO₃ stress on seeds were more significant than that of NaCl stress. Thus it can be seen that cork oak seeds increased protective enzymes activities and contents of osmotic regulation substances in vivo to adapt to the salt-alkali stress, making the inhibition degree of germination and growth to the minimum.

Key Words: *Quercus variabilis*; seed; germination; salt and alkali tolerance; protective enzyme

土壤的盐碱化治理已成为全球范围内迫切需要解决的重大课题。近年来,人们开始由排盐工程治理转向了筛选耐盐植物的生物治理。天津位于渤海之滨,在盐碱地上开展绿化一直是困扰天津城市建设的难题。近年来,天津市滨海地区投入大量的人力、物力、财力进行园林绿化建设,但是在实施土壤改良、排盐技术处理等项目过程中有时不能达到预期效果,导致植物死亡,造成不必要的损失^[1]。因此筛选具有较强耐盐碱能力的园林植物向天津引种显得尤为迫切。

栓皮栎(*Quercus variabilis*)是我国重要的造林树种之一,其木材、树皮、果实及叶等均有重要的经济价值;栓皮栎林是组成我国落叶阔叶林的一个基本群系,同时对保持水土、涵养水源、增加土壤肥力等方面均有重要意义^[2]。将栓皮栎引种到天津地区作为园林植物栽培,不仅可以在绿化、美化环境中发挥作用,而且可以通过软木、栲胶原料生产,为地方经济发展做出贡献。目前对栓皮栎的研究内容主要集中于生物学特性、生态学特性、种群生态、资源培育以及综合利用方面^[3],关于其对盐渍化土壤适应性方面实验研究很少。2008年将栓皮栎幼苗引入到天津市,在不同干旱、盐渍化土壤上栽植,观测其园林特性,发现其对干旱、盐渍化土壤具有一定适应性^[4-5],然而关于栓皮栎种子耐盐碱方面的研究还未见报道。

种子萌发期是植物生活史中最脆弱的阶段,也是进行抗逆性研究的重要时期。近年来,国内外有关盐碱胁迫对种子萌发影响的研究越来越多^[6-7],但是缺乏统一的衡量指标,且研究多集中在 NaCl 胁迫,而对 NaHCO₃、Na₂CO₃胁迫涉及相对较少,在某种程度上可能脱离了植物生境的实际情况^[8-9]。由于天津地区盐渍化土壤主要由以 NaCl 为主的中性盐和以 Na₂CO₃为主的碱性盐组成^[10],且栓皮栎主要通过种子繁殖^[11],因此研究栓皮栎种子在盐碱条件下的萌发和生长对其作为园林植物引种到天津具有重要指导意义。

本研究在控制试验条件下,模拟不同 NaCl 和 Na₂CO₃胁迫条件(0、50、100、200 和 400 mmol/L),采用培养皿滤纸萌发的方法探讨盐碱胁迫对栓皮栎种子萌发、生长及保护酶系统等的的影响,为栓皮栎种子萌发期的耐盐碱特性提供理论参考。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

实验用种子采自栓皮栎分布中心秦岭北坡,周至县楼观台林场。2012 年 10 月份采摘种子后水选法去除空粒和夹杂物,经表面阴干后加入磷化铝包装寄运回实验室,在 4 ℃ 冰箱中保存备用。

种子大小、重量及活力的测定:1)种子千粒重的测定以 1000 粒×3 组的平均值为其平均重量(±标准误差)。2)种子大小以毫米纸为标准,测定 20 粒种子的长轴和短轴,求平均值。3)将种子切成薄片,80 ℃ 烘干至恒重,测定含水量。4)活力测定是按照国家标准 GB2772-81《林木种子检验方法》,从供试样品中随机取出 50 粒种子通过 TTC 法测定活力^[12],统计数据。

经检测,实验用栓皮栎种子直径(15.59±2.23) mm,长(21.07±1.43) mm,千粒重(3720±109) g。新鲜栓皮栎种子含水量为 75.51%,种子活力在 90%以上。选取饱满、大小均匀的种子备用。

1.2 种子培养及胁迫处理

(1)根据预实验以及相关文献^[13-15]配制溶液

NaCl 溶液:用 NaCl 配成 Na⁺ 浓度依次为 50, 100, 200, 400 mmol/L 的溶液,相应 pH 值均为 6.6(用 NaOH 溶液调配);

Na₂CO₃ 溶液:用 Na₂CO₃ 配成 Na⁺ 浓度分别为 50, 100, 200, 400 mmol/L 的溶液,相应 pH 值为 8.9, 11.6, 11.8 和 11.9。

(2)2012 年 12 月 15 日开始种子萌发胁迫实验

选取大小均一、成熟饱满的栓皮栎种子,用自来水冲干净,经 0.1% HgCl₂ 消毒 10 min,蒸馏水冲洗 3 次。吸水纸吸干种子表面水分后,将种子播种于置入 2 层纱布和 1 层滤纸的培养皿(直径 12 cm)中,每一发芽床摆放 20 粒种子。实验设 NaCl 和 Na₂CO₃ 2 个处理,每个处理 4 个梯度水平,每个水平 3 次重复。NaCl 处理下每皿分别移入 10 mL 不同浓度的 NaCl 溶液,Na₂CO₃ 处理分别移入 10 mL 不同浓度 Na₂CO₃ 溶液,使滤纸饱和,用蒸馏水作对照。盖上玻璃盖,以防止溶液蒸发,2d 更换 1 次发芽床。将培养皿置于 SPX-150B-Z 型生化培养箱内,恒温 25 ℃,相对湿度 60%,连续黑暗培养 10 d。

1.3 指标测定

1.3.1 生长指标测定

以种子露白作为发芽标志,每天定时观察、记录种子萌发数,测量胚根长度。种子萌发的时限按国际种子检验规程规定发芽天数为 10 d^[16]。由于 10 d 之内并未出现胚轴及子叶,发芽结束后测定全部胚根鲜重:

$$\text{萌发率 } G = n/N \times 100\%$$

式中, n 为萌发种子数, N 为供试种子数^[17]。

$$\text{发芽指数 } G_i = \sum (G_t/D_t)$$

式中, G_t 为时间 t 日的萌发数, D_t 为相应的萌发天数。

$$\text{活力指数 } I_v = S \times G_i$$

式中, s 为胚根鲜重^[18]。

$$\text{生长速率} = L / \sum [N_i \times (D_t - D_i + 0.5)]$$

式中, L 指每一皿中全部萌发种子胚根或胚轴长度的总和; N_i 指第 i 天的萌发种子数; D_t 指实验持续的天数(10 d), D_i 指第 i 天^[19]。

$$\text{耐盐指数} = V_{lv \text{ 盐}} / V_{lv \text{ 水}} \times 100$$

式中, $V_{lv \text{ 盐}}$ 为盐胁迫下的萌发活力指数, $V_{lv \text{ 水}}$ 为对照下的萌发活力指数^[20]。

相对盐害率^[9]

$$\text{RSH} = (\text{对照萌发率} - \text{处理萌发率}) / \text{对照萌发率} \times 100\%$$

耐盐临界值:先对相应指标和 Na⁺胁迫浓度进行相关分析,若两者存在相关性,则进行回归分析,根据回归方程求出耐盐临界值。耐盐临界值为与盐碱胁迫强度呈正相关的指标增加到对照的 200%时所对应的浓度,或者与盐碱胁迫强度呈负相关的指标降低到对照的 50%时所对应的浓度^[21]。

1.3.2 生理指标测定

保护酶酶液的提取:待发芽结束后,取每培养皿中发芽种子的胚根 0.1 g,置于预冷的研钵中,加适量预冷的 50 mmol/L 磷酸缓冲液(含 1% 聚乙烯吡咯烷酮,pH 值 7)及少量石英砂,在冰浴中研磨成匀浆,在 2—4 ℃ 下,12000 r/min 离心 20 min。上清液为酶液。

SOD(superoxide dismutase)的测定参照李合生^[22]的方法,以抑制氯化硝基四氮唑蓝光化还原 50%为一个酶活性单位表示。CAT(catalase)的测定用紫外吸收法,以 1 min 内 A₂₄₀ 减少 0.1 的酶量为一个酶活性单位^[23]。POD(Peroxidase)的测定用愈创木酚染色法,以每 1 min 内 A₄₇₀ 变化 0.01 为一个过氧化物酶活性单位^[24-35]。可溶性蛋白含量采用考马斯亮兰染色法^[22]测定。

丙二醛和可溶性糖含量采用硫代巴比妥酸法测定^[26]:取每培养皿发芽种子胚根 0.1 g,加入 10% TCA(三氯乙酸)迅速研磨,离心后,取上清和 10%TCA 各 2 mL 于另一空离心管中,加盖煮沸 15 min,冷却后再次离心,测定吸光值。脯氨酸含量测定:取每培养皿发芽种子胚根 0.1 g,加入 3% 磺基水杨酸溶液研磨,将匀浆液全部转入到离心管中,沸水浴 10 min,冷却离心后吸取上清液即为脯氨酸的提取液,采用茚三酮显色法^[22]测定含量。

1.4 数据分析方法

所得数据用 SPSS17.0 进行单因素方差分析,并在置信水平 95%上用 Duncan 方法进行多重比较,每一指标的图或表均为 3 次重复求平均值,然后利用 Excel2003 绘制而成。

2 实验结果与分析

2.1 NaCl 和Na₂CO₃胁迫对栓皮栎种子萌发的影响

2.1.1 NaCl 和Na₂CO₃胁迫对栓皮栎种子总萌发率的影响

如图 1 所示,胁迫结束(10 d)后,两种处理下的萌发率均呈现波动趋势。对照的萌发率为 75%,50 和 200 mmol/L Na⁺浓度下,NaCl 和Na₂CO₃胁迫处理的萌发率均高于对照,且 50 mmol/L NaCl 胁迫下萌发率达到最大值(85%);100 和 400 mmol/L 浓度下两者的萌发率均低于对照,在 100 mmol/L Na₂CO₃胁迫下,萌发率达到最低(62%)。进行单因素方差分析后发现,两种处理对种子萌发率均没有显著影响。除对照之外,相同 Na⁺浓度条件下,NaCl 的萌发率总是高于Na₂CO₃,说明 Na₂CO₃对种子发芽的影响较 NaCl 高。

2.1.2 NaCl 和Na₂CO₃胁迫对栓皮栎种子发芽指数的影响

发芽指数综合种子萌发的数目、速度以及整齐度 3

个因素,比单纯的发芽率更能全面地反映种子的萌发情况^[27]。如图 2 所示,50 和 100 mmol/L NaCl 处理下种子的发芽指数分别是对照的 1.08 和 1.05 倍,之后随着处理浓度的升高发芽指数降低,400 mmol/L 时只降到对照的 93.7%。而在Na₂CO₃胁迫下,各处理浓度的发芽指数呈波动趋势且均低于对照。100 mmol/L 处理下达到最低值,仅为对照的 72.2%;200 mmol/L 处理下达到对照的 96.0%。进行单因素方差分析后发现,两种处理对种子发芽指数均没有显著影响。相同 Na⁺浓度条件下,NaCl 的发芽指数总是高于Na₂CO₃,说明Na₂CO₃对

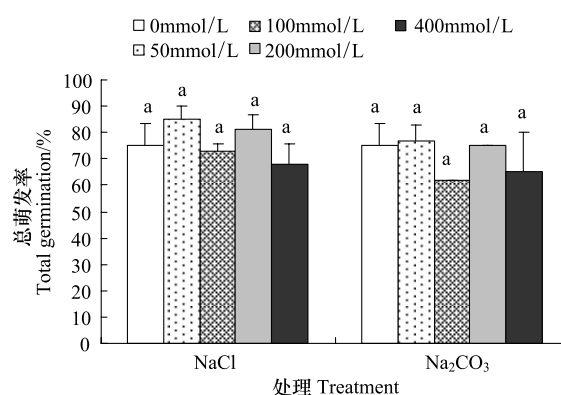


图1 NaCl 和Na₂CO₃胁迫对栓皮栎种子总萌发率的影响
Fig.1 Effect of NaCl and Na₂CO₃ stresses on total germination
不同字母表示相同处理不同 Na⁺浓度在 P<0.05 水平上差异显著

种子的伤害较 NaCl 高,导致种子萌发数目及速度均受到较大影响。

2.2 NaCl 和Na₂CO₃胁迫对栓皮栎种子生长的影响

2.2.1 NaCl 和Na₂CO₃胁迫对栓皮栎种子胚根生长的影响

种子萌发后,胚根的延伸可以反映出植物定居成苗的特性。从表 1 中可以看出,胁迫结束(10 d)后,NaCl 处理下胚根长度、胚根生长速率和胚根鲜重均随 Na⁺ 浓度增加呈下降趋势,在 400 mmol/L 浓度时下降到最低,分别为对照的 45.4%、44.4%、30.6%,且与对照差异显著。Na₂CO₃胁迫下胚根长度、胚根生长速率和胚根鲜重呈波动下降趋势,且均低于对照,400 mmol/L Na₂CO₃ 胁迫下分别下降为对照的 32.6%、41.7%、23.4%。相同 Na⁺ 浓度条件下,NaCl 处理下的胚根长度、胚根生长速率和胚根鲜重均大于Na₂CO₃,说明Na₂CO₃胁迫对种子胚根生长的影响更为严重。与对照相比,400 mmol/L NaCl 胁迫下栓皮栎种子生长受到抑制,且胚根尖端变黑;而在同浓度Na₂CO₃胁迫下不仅胚根尖端变黑,种子本身也明显发黑(图 3)。

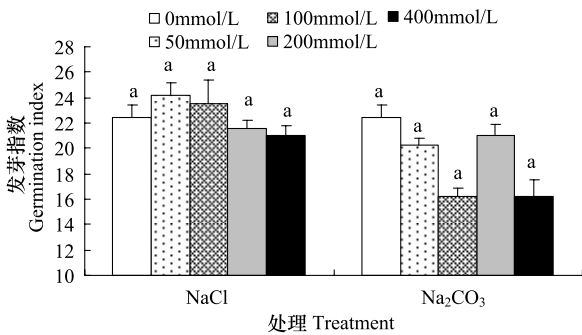


图 2 NaCl 和Na₂CO₃胁迫对栓皮栎种子发芽指数的影响

Fig. 2 Effects of NaCl and Na₂CO₃ stresses on germination index

表 1 不同浓度 NaCl 和Na₂CO₃胁迫对栓皮栎种子胚根长度、胚根生长速率和胚根鲜重的影响

Table 1 Effects of different concentrations of NaCl and Na₂CO₃ on the length, growth rate and fresh weight of radicle

Na ⁺ 浓度 Na ⁺ Concentration/ (mmol/L)	胚根长度 Length of radicle/mm		胚根生长速率 Radicle growth rate/(mm/d)		胚根鲜重 Fresh weight of radicle/mg	
	NaCl	Na ₂ CO ₃	NaCl	Na ₂ CO ₃	NaCl	Na ₂ CO ₃
0	28.9±4.8a	28.9±4.8a	1.08±0.011a	1.08±0.011a	295.0±0.02a	295.0±0.02a
50	24.8±1.2ab	17.5±0.5b	0.92±0.023ab	0.70±0.005b	282.4±0.25ab	112.8±0.26b
100	23.4±3.4ab	14.2±3.8bc	0.90±0.012ab	0.58±0.017bc	265.9±0.35ab	78.6±0.25bc
200	17.5±3.0c	18.7±4.4ab	0.67±0.007bc	0.68±0.010b	189.0±0.09bc	85.6±0.19b
400	14.2±0.8c	10.2±0.9c	0.48±0.009c	0.45±0.005c	90.4±0.38c	69.1±0.24c

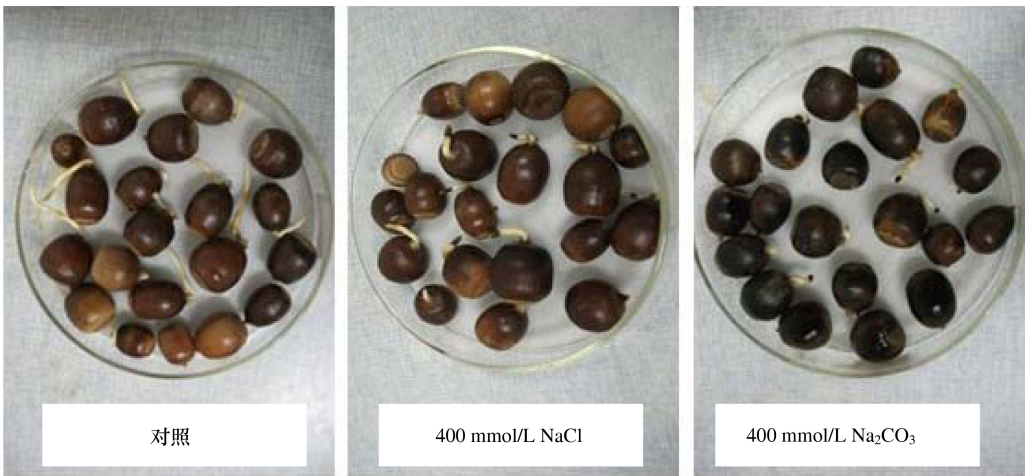


图 3 萌发 5 d 后对照及 400 mmol/L NaCl 和Na₂CO₃胁迫处理下的栓皮栎种子

Fig.3 The seeds under CK and 400 mmol/L NaCl and Na₂CO₃ stress after five days

通过相关分析及建立盐碱胁迫浓度与各指标之间的回归方程,发现栓皮栎种子胚根鲜重、胚根长度、胚根生长速率与盐碱胁迫具有显著相关关系,且 NaCl 胁迫下胚根鲜重、胚根长度和胚根生长速率的临界值分别为

300.0、333.6、369.6 mmol/L;Na₂CO₃胁迫下其临界值分别为 67.2、182.0、187.5 mmol/L(表 2)。

表 2 栓皮栎种子胚根生长、活力指数等与盐碱胁迫的相关系数及回归方程

Table 2 The relationship and regression equation between radicle growth, vigor index and different concentrations of Na ⁺				
测定指标 Index	胁迫处理 Treatment	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation index (R ²)	临界值 Critical value/ (mmol/L)
胚根长度	NaCl	$y = 9 \times 10^{-5}x^2 - 0.0732x + 28.903$	0.990	333.6
Length of raticle	Na ₂ CO ₃	$y = 0.0001x^2 - 0.0756x + 24.897$	0.629	182.0
胚根生长速率	NaCl	$y = 2 \times 10^{-7}x^2 - 0.0002x + 0.1074$	0.984	369.6
Radicle growth rate	Na ₂ CO ₃	$y = 4 \times 10^{-7}x^2 - 0.0003x + 0.0961$	0.709	187.5
活力指数	NaCl	$y = -5 \times 10^{-5}x^2 - 0.051x + 36.369$	0.927	300.0
Vigor index	Na ₂ CO ₃	$y = 0.0004x^2 - 0.1932x + 27.969$	0.777	69.0
胚根鲜重	NaCl	$y = -0.0001x^2 - 0.485x + 302.71$	0.987	300.0
Fresh weight of radicle	Na ₂ CO ₃	$y = 0.0031x^2 - 1.6688x + 245.67$	0.745	67.2

2.2.2 NaCl 和Na₂CO₃胁迫对栓皮栎种子活力指数的影响

种子活力比常规发芽率的测定更能反映种子在实际条件下萌发速度和整齐度以及幼苗健壮生长的潜势^[28]。如图 4 所示,NaCl 胁迫下种子的活力指数在 50 mmol/L 时达到最大值,是对照的 1.17 倍。100—400 mmol/L 浓度下活力指数不断下降,400 mmol/L 时下降到最低,与对照差异显著。而在Na₂CO₃处理下种子活力指数均低于对照,且差异显著,400 mmol/L 下降到最低值,仅为对照的 19.3%。相同Na⁺浓度条件下,NaCl 的活力指数总是高于Na₂CO₃,说明Na₂CO₃处理对种子活力的抑制作用大于 NaCl。建立两种胁迫条件下活力指数与 Na⁺浓度的回归方程,发现其在 NaCl 和Na₂CO₃胁迫下的临界值分别为 300.0、69.0 mmol/L(表 2)。

2.2.3 NaCl 和Na₂CO₃胁迫对栓皮栎种子耐盐指数和相对盐害率的影响

相对盐害率反映栓皮栎种子受胁迫的伤害程度,耐盐指数反映其对盐碱胁迫的耐受程度。从表 3 中看出,NaCl 胁迫下,400 mmol/L 时相对盐害率达到最大值,而在 50 和 200 mmol/L 下的种子并未受到毒害,反而表现为萌发受到促进;Na₂CO₃处理下,100 mmol/L 时相对盐害率达到最大,而 50 mmol/L 下表现为促进。NaCl 胁迫下种子的耐盐指数在 50 mmol/L 处理下达到最大值,是对照的 1.17 倍。100—400 mmol/L 浓度下耐盐指数不断下降,在 400 mmol/L 下降到最低,且与对照差异显著。而在Na₂CO₃处理下种子耐盐指数均低于对照,400 mmol/L下降到最低值,仅为对照的 19.3%。相同 Na⁺浓度条件下,NaCl 的耐盐指数和相对盐害率总是高于Na₂CO₃,说明Na₂CO₃处理对种子活力的毒害作用大于 NaCl。

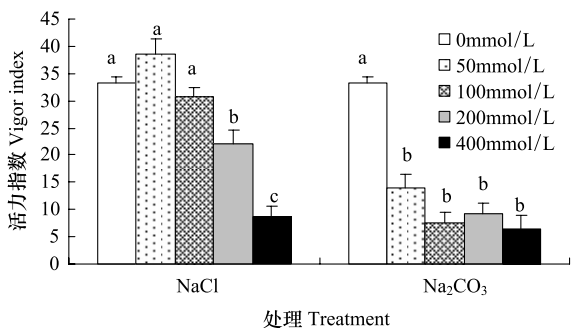


图 4 不同浓度 NaCl 和Na₂CO₃胁迫对栓皮栎种子活力指数的影响
Fig.4 Effects of different concentrations of NaCl and Na₂CO₃ on the seed vigor index

表 3 不同浓度 NaCl 和Na₂CO₃胁迫对栓皮栎种子耐盐指数和相对盐害率的影响

Table 3 Effects of different concentrations of NaCl and Na ₂ CO ₃ on salt tolerance index and relative salt-harmed rate				
Na ⁺ 浓度 Na ⁺ concentration/ (mmol/L)	耐盐指数 Salt tolerance index		相对盐害率 Relative salt-harmed rate	
	NaCl	Na ₂ CO ₃	NaCl	Na ₂ CO ₃
0	100	100	0	0
50	116.82	42.07	-13.33	-2.67
100	92.47	22.96	2.22	17.33
200	66.82	27.85	-8.89	0
400	26.04	19.01	8.89	13.33

2.3 NaCl 和 Na_2CO_3 胁迫对栓皮栎种子生理特性的影响

2.3.1 NaCl 和 Na_2CO_3 胁迫对栓皮栎种子丙二醛含量及保护酶活性的影响

在植物抗逆性实验中,通常用丙二醛(MDA)的含量变化来衡量脂质过氧化程度^[29]。随 Na^+ 浓度的升高,两种处理下的 MDA 含量均呈现升高趋势,但升高幅度不同,且 Na_2CO_3 胁迫下的 MDA 含量均高于 NaCl(图 5),可见 Na_2CO_3 胁迫下栓皮栎种子的膜脂过氧化程度较大。

在 NaCl 胁迫下,SOD 活性在 50—200 mmol/L 时均高于对照,但与对照无显著差异,而 400 mmol/L 时显著低于对照。在 Na_2CO_3 胁迫下,SOD 活性均低于对照(图 6),且与对照差异显著。NaCl 处理下的 SOD 活性是相同浓度 Na_2CO_3 处理的 1.01—1.03 倍,说明 SOD 对碱胁迫较敏感。

两种处理下 POD 活性均呈现波动趋势,且彼此间均无显著影响(图 6)。等 Na^+ 浓度下, Na_2CO_3 处理下的 POD 活性均高于 NaCl,说明 NaCl 对 POD 活性的抑制程度大于 Na_2CO_3 。

CAT 活性在 NaCl 和 Na_2CO_3 胁迫下均呈现先降低后升高的趋势。两种处理下的 CAT 活性均在 50 mmol/L 下达到最低值,分别为对照的 76.8%、93.1%,之后不断升高,NaCl 处理在 400 mmol/L 时达到最大值, Na_2CO_3 胁迫在 200 mmol/L 时达到最大值(图 6)。等 Na^+ 浓度下, Na_2CO_3 处理下的 CAT 活性均高于 NaCl,说明 CAT 活性对盐胁迫敏感度低于碱胁迫。

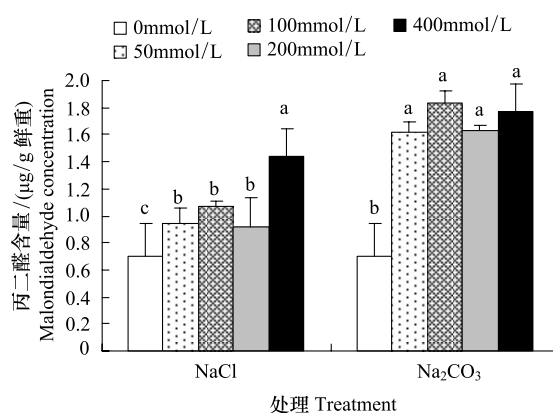


图 5 不同浓度 NaCl 和 Na_2CO_3 胁迫对栓皮栎种子丙二醛含量的影响

Fig.5 Effects of different concentrations of NaCl and Na_2CO_3 on the MDA (malondialdehyde) contents in seeds

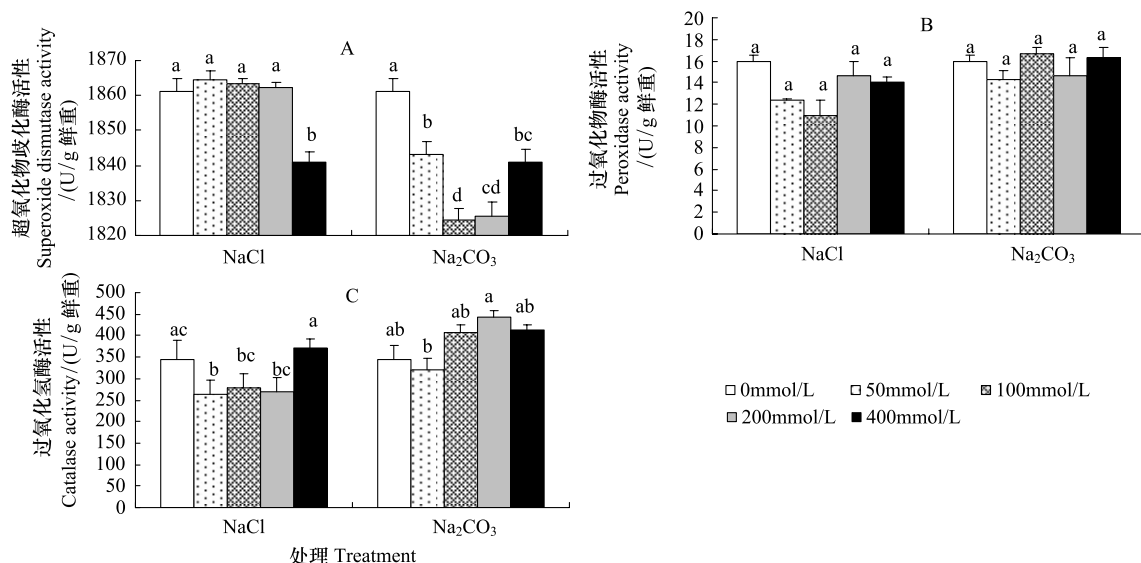


图 6 不同浓度 NaCl 和 Na_2CO_3 胁迫对栓皮栎种子 SOD、POD、CAT 活性的影响

Fig.6 Effects of different concentrations of NaCl and Na_2CO_3 on the SOD (superoxide dismutase), POD (peroxidase) and CAT (catalase) activities in seeds

2.3.2 NaCl 和 Na_2CO_3 胁迫对栓皮栎种子有机渗透调节物质的影响

可溶性蛋白含量在两种胁迫下均呈现升高趋势,在 400 mmol/L 时达到最大值,分别比对照增加 33.1%、68.5%(图 7)。 Na_2CO_3 处理下的可溶性蛋白含量是相同浓度 NaCl 处理的 1.26—1.88 倍,说明碱胁迫下栓皮栎种子受到更大的渗透胁迫。

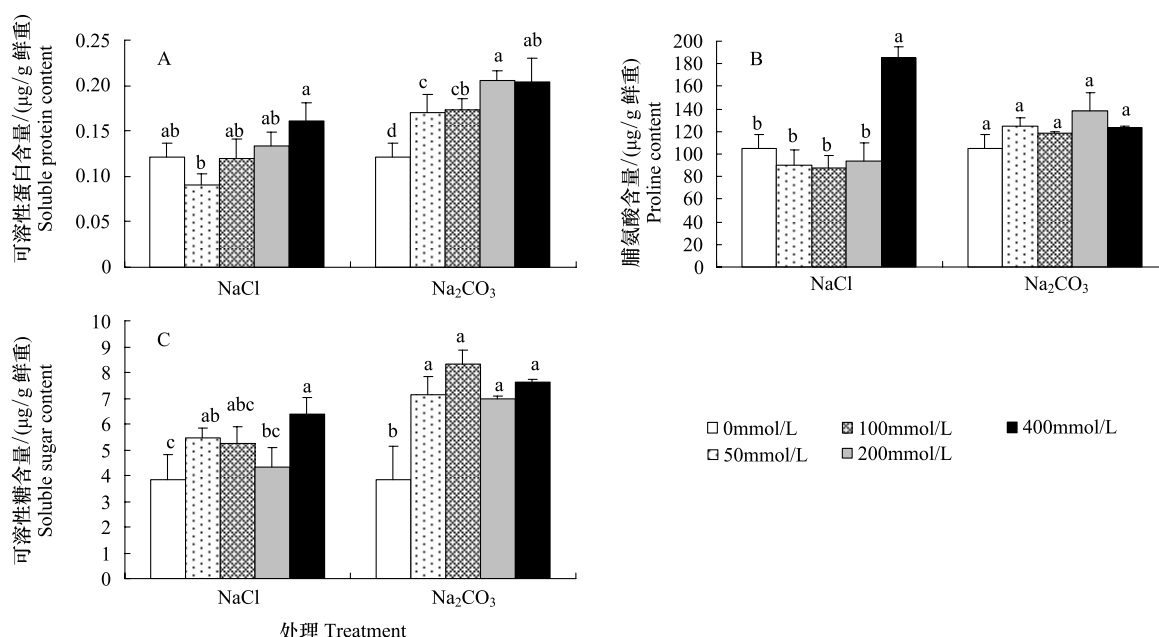


图7 不同浓度NaCl和Na₂CO₃胁迫对栓皮栎种子可溶性糖、可溶性蛋白和脯氨酸含量的影响

Fig.7 Effects of different concentrations of NaCl and Na₂CO₃ on the soluble protein, soluble sugar and proline contents in seeds

0—200 mmol/L NaCl 胁迫条件下,脯氨酸含量基本保持不变,400 mmol/L 时迅速增加到对照的 1.18 倍。Na₂CO₃ 处理下的脯氨酸含量曲折上升,在 0—200 mmol/L 时均高于同浓度 NaCl 处理,200 mmol/L 时达到最大值,400 mmol/L 时有所下降,且低于同浓度 NaCl (图 7)。可见,脯氨酸对 Na₂CO₃ 和高浓度 (400 mmol/L) NaCl 处理较为敏感。

可溶性糖在不同浓度 NaCl 和 Na₂CO₃ 胁迫下呈现曲折升高的趋势。两种处理分别在 400 mmol/L 和 100 mmol/L 时达到峰值,分别为对照的 1.68、2.18 倍 (图 7)。同等 Na⁺ 浓度下,Na₂CO₃ 处理下的可溶性糖含量均高于 NaCl,说明碱胁迫下栓皮栎需要更多的可溶性糖来调节渗透压。

3 讨论

50 mmol/L NaCl 处理下种子的萌发率、活力指数和耐盐指数均比对照高,相对盐害率表现为促进作用,这与邱念伟等^[30]对伽蓝菜和碱蓬、毛培春等人^[20,31-32]的研究结果相似,可能与低浓度盐促进细胞膜渗透调节有关,也可能是微量的 Na⁺ 对呼吸酶有一定的激活作用^[33]。即使盐碱浓度较高 (200 mmol/L),种子萌发率仍高于对照,可能是栓皮栎种子较大,其本身具有较高的含水量引起的。Na₂CO₃ 胁迫下,种子发芽指数均受到抑制,而 200 mmol/L 条件下发芽指数较高,可能此时脯氨酸和可溶性蛋白含量增加、CAT 活性增强,使种子发芽受抑制程度降低,或者是 Na⁺、Cl⁻ 参与了无机渗透调节^[34],这有待于进一步研究。等 Na⁺ 浓度时,Na₂CO₃ 胁迫下萌发率、发芽指数、活力指数和耐盐指数均小于 NaCl,说明碱胁迫比盐胁迫具有更大的伤害力^[35-36]。

NaCl 胁迫条件下的胚根生长和胚根生长速率受到抑制,即随着 Na⁺ 浓度的增加而显著下降;Na₂CO₃ 胁迫下胚根生长严重受阻,这可能和细胞内激素调节有关^[37],200 mmol/L 胁迫条件下却高于 100 mmol/L,可能较高且适宜的浓度胁迫仍然对种子生长有刺激作用,这与窦声云等^[38]对老芒麦的研究结果类似。50 mmol/L NaCl 处理下的胚根鲜重高于对照,可能较低浓度的胁迫可以刺激同化物更多向根系分配,促使根系的分枝和下扎^[39]。Na⁺ 浓度相同时,Na₂CO₃ 胁迫下的胚根长度、胚根生长速率、胚根鲜重均低于 NaCl 胁迫,因为碱性盐胁迫下除了 Na⁺ 作用外还增加高 pH 的作用^[40]。

根据耐盐临界值的比较分析可以发现,活力指数和胚根鲜重对盐胁迫较为敏感,其次为胚根长度,胚根生长速率最不敏感。由于胚根鲜重受到最为强烈的抑制,因此,由胚根长度得到的耐盐临界值 (最小耐盐临界

值)最能反映种子萌发期的耐盐性,在盐碱胁迫下其最小临界值分别为 333.6、182.0 mmol/L。

在胁迫条件下,植物因盐碱伤害而使细胞膜受到损伤,产生大量的 MDA,膜受伤害又产生大量自由基^[41];此时植物的保护酶系统被激活。SOD、POD 和 CAT 是植物体内酶促防御系统的 3 个重要保护酶,它们发挥协同作用,消除活性氧,保护植物膜系统^[42]。本研究,栓皮栎种子在低浓度 NaCl (50 mmol/L)胁迫下,主要是 SOD 起作用,这与寇贺等^[43]对大豆 (*Glycine max*) 种子萌发的研究结果相似;而在 Na₂CO₃ 和高浓度 NaCl 胁迫下 SOD 活性降低,可能是其调节能力有限,酶结构遭受破坏导致体内积累了过量的活性氧自由基,这些自由基又引起膜过氧化,产生大量 MDA。CAT 和 POD 在两种胁迫下并未受到伤害导致活性降低,而是在波动范围内保持正常活性来清除氧自由基。等 Na⁺ 浓度,NaCl 处理下的 SOD 活性均高于 Na₂CO₃, Na₂CO₃ 处理下的 POD 和 CAT 活性均高于 NaCl。由此推测 NaCl 处理下主要靠 SOD 清除自由基,Na₂CO₃ 处理下主要靠 POD 和 CAT 活性来维持植物体内活性氧的产生和清除之间的动态平衡,可能是栓皮栎种子保护酶活性在盐碱胁迫下的调控机制不同,这有待于进一步研究。

在盐碱胁迫下,细胞会发生渗透胁迫,植物通过增加体内有机渗透调节物质含量来降低细胞内渗透势,提高自身耐受性。本研究中,两种处理下的可溶性蛋白含量均上升,可能栓皮栎种子经盐碱胁迫后产生较多的有害物质,需要合成较多的酶类物质以清除这些有害物质^[13]。在高浓度 NaCl (400 mmol/L)胁迫下脯氨酸含量的显著增加,可降低细胞渗透势,缓解渗透胁迫对植物生长的抑制作用;而在 Na₂CO₃ 胁迫下增幅不显著,可能是 Na₂CO₃ 抑制了脯氨酸合成酶系^[44]。两种胁迫下可溶性糖含量均升高,其含量增加可提高植物细胞的渗透调节能力。等 Na⁺ 浓度下,Na₂CO₃ 处理下的脯氨酸、可溶性蛋白和可溶性糖含量均高于 NaCl。这是由于植物在碱胁迫下除了要承受与盐胁迫相同的渗透胁迫与离子伤害,还要抵御高 pH 值胁迫。已经有研究表明,以 Na₂CO₃ 为主要盐分的碱胁迫对植物生长发育的危害远大于 NaCl 为主的盐胁迫^[45-47],在本研究中也得到了证实。

综上所述,在盐碱胁迫下,栓皮栎种子通过提高自身保护酶活性、增加体内渗透调节物质等来抵抗逆境,降低盐碱胁迫对种子萌发及生长的伤害。可见,栓皮栎在种子萌发期具有一定的抗盐碱能力,但本研究不能完全代表大田育苗的实际情况,还有待于进一步进行大田出苗期耐盐碱实验,使其在天津等盐碱地区大面积广泛种植。

参考文献 (References):

- [1] 张鸽.天津滨海地区园林绿化工程土壤改良及排盐技术应用.中国园艺文摘, 2011, (6): 86-87.
- [2] 吴明作.栓皮栎研究进展.陕西林业科技, 1998, (4): 65-69.
- [3] 周建云, 林军, 何景峰, 张文辉.栓皮栎研究进展与未来展望.西北林学院学报, 2010, 25(3): 43-49.
- [4] 崔豫川, 张文辉, 王校锋.栓皮栎幼苗对土壤干旱胁迫的生理响应.西北植物学报, 2013, 33(2): 364-370.
- [5] 李志萍, 张文辉.NaCl 胁迫对栓皮栎幼苗生长及其生理响应.西北植物学报, 2013, 33(8): 1630-1637.
- [6] 郎志红.盐碱胁迫对植物种子萌发和幼苗生长的影响 [D].兰州: 兰州交通大学, 2008.
- [7] 刘爱荣, 张远兵, 黄守程, 胡向奇.NaCl 与 Na₂CO₃ 对高羊茅种子萌发及幼苗生长胁迫效应比较.热带作物学报, 2011, 32(6): 1064-1068.
- [8] 刘建新, 王鑫, 王瑞娟, 李东波.碱胁迫对黑麦草幼苗根系活性氧代谢和渗透溶质积累的影响.植物研究, 2011, 31(6): 674-679.
- [9] 赵丽珍, 韩路.水分与盐分对荒漠植物种子萌发的影响.塔里木大学学报, 2012, 24(3): 96-104.
- [10] 杨永利, 徐君, 富东英, 郝晋珉.滨海重盐渍荒漠化地区生态重建生物技术模式的研究——以天津滨海新区为例.农业环境科学学报, 2004, 23(2): 359-363.
- [11] 马家骅.栓皮栎直播造林技术.甘肃科技, 2010, 26(15): 161-162, 150-150.
- [12] 宋松泉, 程红焱, 龙春林, 姜孝成.种子生物学研究指南.北京: 科学出版社, 2005: 3-6.
- [13] 代莉慧, 蔡禄, 张鲁刚, 王立成, 贾晋.NaCl 和 Na₂CO₃ 胁迫对盐爪爪种子萌发过程中生理生化变化的研究.种子, 2011, 30(11): 53-55, 59-59.
- [14] 蔺吉祥, 李晓宇, 唐佳红, 张兆军, 李卓琳, 高战武, 穆春生.盐碱胁迫对小麦种子萌发、早期幼苗生长及 Na⁺、K⁺ 代谢的影响.麦类作物学报, 2011, 31(6): 1148-1152.
- [15] 贾波, 曹帮华, 庞丙亮, 王兵, 张明如.不同盐碱胁迫对火炬树种子萌发的影响.山东科学, 2009, 22(4): 19-23.

- [16] 国际种子检验协会(ISTA).国际种子检验规程.北京:中国农业出版社,1999.
- [17] 孙时轩.造林学.北京:中国林业出版社,1992.
- [18] 郑光华.种子生理研究.北京:科学出版社,2004.
- [19] Debez A, Hamed K B, Grignon C G, Abdelly C.Salinity effects on germination, growth, and seed production of the halophyte *Cakile maritima*. Plant and Soil, 2004, 262(1/2): 179-189.
- [20] 毛培春.18 种多年生禾草种子萌发期和幼苗期的耐盐性比较研究 [D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2004.
- [21] 刘宝玉,张文辉,刘新成,姜珊.沙枣和柠条种子萌发期耐盐性研究.植物研究,2007,27(6): 721-728.
- [22] 李合生.植物生理生化实验原理和技术.北京:高等教育出版社,2000.
- [23] 薛应龙.植物生理学实验手册.上海:上海科学技术出版社,1985.
- [24] 张志良,瞿伟菁.植物生理学实验指导(第三版).北京:高等教育出版社,2003:123-124.
- [25] 朱广廉,钟海文,张爱琴.植物生理学实验.北京:北京大学出版社,1990.
- [26] 王晶英,敖红,张杰.植物生理生化实验技术与原理.哈尔滨:东北林业大学出版社,2003:135-136.
- [27] 王娟娟,张文辉,刘新成.NaCl 胁迫对 3 种不同处理四翅滨藜种子萌发的影响.西北农业学报,2010,19(1): 104-111.
- [28] 徐秀梅,张新华.四翅滨藜种子发芽生态学研究.宁夏农林科技,2002,(6): 14-14,20-20.
- [29] Brito G, Costa A, Fonseca H M A C, Santos C V.Response of *Olea europaea* ssp. *Maderensis* in vitro shoots exposed to osmotic stress.Scientia Horticulturae, 2003, 97(3/4): 411-417.
- [30] 邱念伟,陈敏,杨洪兵,王宝山.伽蓝菜和碱蓬耐旱耐盐机理的比较研究.山东科学,2001,14(1): 5-10.
- [31] 马琳.NaCl 胁迫对牧草种子萌发与幼苗生理生化的影响及耐盐性评价 [D].泰安:山东农业大学,2010.
- [32] Mani S, Van de Cotte B, Van Montagu M, Verbruggen N.Altered levels of proline dehydrogenase cause hypersensitivity to proline and its analogs in *Arabidopsis*.Plant Physiology, 2002, 128(1): 73-83.
- [33] 李尉霞.NaCl 胁迫对大麦种子萌发及幼苗生理生化特性的影响 [D].石河子:石河子大学,2007.
- [34] 李敏,张健,李玉娟,谈峰,丛小丽.植物耐盐生理及耐盐基因的研究进展.江苏农业科学,2012,40(10): 45-48.
- [35] 石德成,盛艳敏,赵可夫.复杂盐碱生态条件的人工模拟及其对羊草生长的影响.草业学报,1998,7(1): 36-41.
- [36] El-Shma H M A, Shaddad M A K.Comparative effect of sodium carbonate, sodium sulphate, and sodium chloride on the growth and related metabolic activities of pea plants.Journal of Plant Nutrition, 1996, 19(5): 717-728.
- [37] Jafri A Z, Ahmad R.Plant growth and ionic distribution in cotton under saline environment.Pakistan Journal of Botany, 1994, 26(1): 105-114.
- [38] 窦声云,周学丽,莫玉花.Na₂CO₃胁迫对老芒麦和星星草种子萌发的影响.草业科学,2010,27(9): 124-127.
- [39] 王文帆,梁素钰,刘滨凡,刘广菊.聚乙二醇对谷稗种子萌发及相关生理指标的影响.中国农学通报,2010,26(12): 122-125.
- [40] 王平,殷立娟,李建东.中性盐和碱性盐对羊草幼苗胁迫的研究.草业学报,1994,3(2): 37-43.
- [41] 田晓艳,刘延吉,张蕾,张弘,刘沛含.盐胁迫对景天三七保护酶系统、MDA、Pro 及可溶性糖的影响.草原与草坪,2009,(6): 11-14.
- [42] Tiffin L O, Brown J C.Absorption of iron from iron chelate by sunflower roots.Science, 1959, 130(3370): 274-275.
- [43] 寇贺,曹敏建,那桂秋.Na₂CO₃和 NaCl 对大豆种子萌发胁迫效应的比较研究.种子,2007,26(12): 27-30.
- [44] 吴若菁,庄捷,陈清松,陈文萍.铅胁迫下马尾松微核率与生理指标变化的相关分析.林业科学,2010,46(8): 78-83.
- [45] 杨春武,李长有,张美丽,刘杰,鞠森,石德成.盐、碱胁迫下小冰麦体内的 pH 及离子平衡.应用生态学报,2008,19(5): 1000-1005.
- [46] 杨春武,李长有,尹红娟.小冰麦 (*Triticum aestivum*-*Agropyron intermedium*) 对盐胁迫和碱胁迫的生理响应.作物学报,2007,33(8): 1255-1261.
- [47] Zhang J T, Mu C S.Effects of saline and alkaline stresses on the germination, growth, photosynthesis, ionic balance and anti-oxidant system in an alkali-tolerant leguminous forage *Lathyrus quinquenervius*.Soil Science and Plant Nutrition, 2009, 55(5): 685-697.