

DOI: 10.5846/stxb201809172021

任艳芳, 何俊瑜, 杨军, 韦愿娟. 外源 H_2O_2 对盐胁迫下小白菜种子萌发和幼苗生理特性的影响. 生态学报, 2019, 39(20): - .

Ren Y F, He J Y, Yang J, Wei Y J. Effects of exogenous hydrogen peroxide on seed germination and physiological characteristics of pakchoi seedlings (*Brassica chinensis* L.) under salt stress. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(20): - .

外源 H_2O_2 对盐胁迫下小白菜种子萌发和幼苗生理特性的影响

任艳芳^{1,2}, 何俊瑜^{1,2,*}, 杨 军², 韦愿娟²

1 常州大学环境与安全工程学院, 常州 213164

2 贵州大学农学院, 贵阳 550025

摘要:以小白菜“甜脆青”为试材,研究不同浓度(5、10、25、50 和 100 mmol/L)过氧化氢(H_2O_2)浸种处理对 100 mmol/L NaCl 胁迫下小白菜(*Brassica chinensis* L.)种子萌发、幼苗生长及生理特性的影响。结果表明:100 mmol/L NaCl 胁迫明显抑制小白菜种子的萌发状况和幼苗生长,发芽势、发芽指数、活力指数及幼苗根和芽长度和鲜重均明显降低,根和芽中 CAT 的活性及 K^+ 含量明显受到抑制,渗透调节物质、活性氧和 MDA 含量显著增加。不同浓度 H_2O_2 浸种处理提高了 NaCl 胁迫下小白菜种子发芽势、发芽指数和活力指数,促进小白菜根和芽的生长,增强了 NaCl 胁迫下根和芽中 SOD、CAT 和 APX 的活性及 K^+ 含量,降低 O_2^- 产生速率及 H_2O_2 和 MDA 含量,进一步促进脯氨酸和可溶性糖含量的增加,降低体内 Na^+ 含量。其中以 10 mmol/L H_2O_2 处理缓解盐胁迫效果最好,明显缓解 NaCl 胁迫对小白菜种子萌发和幼苗生长的抑制。

关键词:过氧化氢;盐胁迫;小白菜;萌发;生理特性

Effects of exogenous hydrogen peroxide on seed germination and physiological characteristics of pakchoi seedlings (*Brassica chinensis* L.) under salt stress

REN Yanfang^{1,2}, HE Junyu^{1,2,*}, YANG Jun², WEI Yuanjuan²

1 School of Environmental and Safety Engineering, Changzhou University, Changzhou 213164, China

2 College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, China

Abstract: Salt stress imposes a major environmental threat to agriculture; therefore, efforts to increase salt tolerance of crop plants bear remarkable importance for sustainable agriculture on saline lands and could potentially improve crop yield overall. Pakchoi (*Brassica chinensis* L.) seeds were pre-treated with 5, 10, 25, 50 and 100 mmol/L hydrogen peroxide (H_2O_2) solution for 2 h to evaluate the effect of H_2O_2 on germination, early growth, and physiological characteristics of seedlings under 100 mmol/L NaCl stress. Results showed that 100 mmol/L NaCl stress inhibited pakchoi seed germination and seedling growth. Germination potential, germination index, vigour index, and root length were decreased significantly. The osmosis-regulating substance, reactive oxygen species (ROS), and malondialdehyde (MDA) content in roots and shoots of pakchoi was increased significantly. However, the activities of catalase (CAT) and K^+ content in roots and shoots were strongly inhibited. Different concentrations of H_2O_2 (5, 10, 25, 50, and 100 mmol/L H_2O_2) increased the seed germination potential, germination index, and vigour index, and promoted the growth of pakchoi roots and shoots. Application of H_2O_2 also significantly enhanced the activities of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD),

基金项目:国家自然科学基金项目(31460100 和 31660477);贵州省科技计划项目(黔科合平台人才[2017]5788 号);常州大学人才引进项目(201709 和 201710)

收稿日期:2018-09-17; 网络出版日期:2019-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: junyuhe0303@126.com

ascorbate peroxidase (APX), and CAT, and decreased the contents of MDA and reactive oxygen species like H_2O_2 and $\text{O}_2^{\cdot-}$ in roots and shoots of pakchoi seedlings, and further increased the proline and soluble sugar contents. In addition, K^+ content and K^+/Na^+ in roots and shoots of pakchoi seedlings were increased by H_2O_2 ; however, Na^+ content was decreased. 10 mmol/L H_2O_2 showed the best effect for improving seed germination and seedling growth of pakchoi under NaCl stress. However, the mitigative effects of 100 mmol/L H_2O_2 on inhibition of pakchoi seed germination and seedling growth caused by NaCl stress were weakened. Hence, an appropriate concentration of H_2O_2 treatment improved NaCl tolerance of pakchoi plants by increasing the plant's antioxidative defence system, the capacity for osmotic adjustment, and K^+ content and decreasing the contents of ROS and Na^+ to alleviate membrane lipid peroxidation, thereby increasing seed germination and seedling growth under NaCl stress.

Key Words: hydrogen peroxide; salt stress; pakchoi; germination; physiological characteristics

土壤盐渍化已成为当前全球极其重要的农业与环境问题,有报道表明全球有 20% 的耕地和 33% 的灌溉农田受到土壤盐分的影响,且农业生产中不合理的灌溉和过度施肥将进一步加剧土壤次生盐渍化^[1]。已有研究表明,盐渍条件下,植物体内会发生渗透胁迫,同时,会造成离子平衡失调或离子毒害、植物体内活性氧的产生与清除代谢紊乱,造成细胞氧化损伤,进而对膜系统造成伤害,叶绿素降解、光合能力下降、营养亏缺等现象^[2-5],从而影响植物正常的生长发育,造成作物产量和品质的下降,严重时甚至导致死亡,阻碍了农业的可持续发展和生态环境建设^[6-7]。因此,探寻提高植物耐盐途径成为国内外的研究热点。

利用外源物质诱导植物产生抗逆性是提高植物抵御不良环境的有效方法。过氧化氢 (Hydrogen peroxide, H_2O_2) 是生物体内的一种活性氧分子,也是生物细胞应答逆境胁迫的重要信号分子,广泛参与植物的抗性反应^[8-10],且表现为保护和毒害双重作用,即低浓度 H_2O_2 则会诱导植物对逆境胁迫的抗性反应,提高植物的抗逆性,而高浓度 H_2O_2 会加速植物细胞的氧化损伤和细胞壁结构蛋白交联,甚至诱导程序性死亡^[8, 11-12]。研究表明外源 H_2O_2 处理可以明显缓解铝毒对小麦幼苗根生长的抑制作用^[12],调节脯氨酸代谢,增强甜玉米幼苗对铜胁迫的抗性^[13]。外源 H_2O_2 处理种子可促进淹水胁迫下大豆幼苗体内抗氧化酶活性,降低活性氧对细胞膜的损伤,提高植株的气孔导度、净光合速率和生物量^[14]。 H_2O_2 叶面喷施处理明显增强干旱胁迫下黄瓜幼苗植株体内的抗氧化能力和渗透调节能力,有效缓解细胞膜脂过氧化程度^[15]。较低浓度 H_2O_2 预处理可以明显提高盐胁迫下人参植株的株高、光合色素含量以及干物质量,而高浓度 H_2O_2 处理则会严重抑制人参植株生长^[11]。此外,适宜浓度的 H_2O_2 预处理可明显提高盐胁迫下小麦幼苗中超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、过氧化物酶 (POD) 和抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性,增加谷胱甘肽和类胡萝卜素含量^[16];提高绿豆幼苗体内的抗坏血酸和谷胱甘肽含量,降低丙二醛 (MDA) 含量和超氧阴离子产生速率,提高植株的耐盐性^[17]。也有研究表明 H_2O_2 处理可明显增强盐胁迫下草莓植株叶片中抗氧化酶、抗坏血酸和谷胱甘肽合成酶的表达水平,明显提高光合能力^[18]。我们的研究表明适宜浓度的 H_2O_2 可以提高水稻幼苗抗氧化能力,缓解 Cd 胁迫伤害^[8]。

小白菜 (*Brassica chinensis* L.) 是深受人们喜爱的蔬菜之一。近年来随着土壤盐渍化程度的加重,使小白菜的萌发和生长受到明显抑制,产量和品质降低^[19]。种子萌发期是小白菜生长周期的开始,在小白菜生长过程中至关重要,影响到后续幼苗的生长发育,而缓解盐胁迫对小白菜种子在萌发过程中的伤害,有利于提高其产量和品质。目前有关 H_2O_2 在小白菜耐盐方面的研究还未见报道。为此,本研究探讨盐胁迫下不同浓度的外源 H_2O_2 浸种处理对小白菜种子萌发、幼苗生长、膜脂过氧化、活性氧积累、抗氧化酶、渗透调节物质及幼苗 Na^+ 和 K^+ 选择性吸收的影响,旨在探索利用外源 H_2O_2 来缓解盐胁迫对作物的毒害,为农业生产中使用化学调控手段提高作物对盐胁迫的耐受性提供理论依据和实践指导。

1 材料与方法

1.1 材料

供试小白菜品种为甜脆青(*Brassica chinensis* L.) F1 代,购于贵州贵丰种业有限公司。过氧化氢(30%)购自国药集团化学试剂有限公司。

1.2 试验设计与处理

1.2.1 NaCl 浓度的筛选

精选大小均一、籽粒饱满的小白菜种子,0.5%的 NaClO 溶液消毒 10 min,蒸馏水反复冲洗干净,蒸馏水浸种 2 h 后,将浸种催芽后的种子分别播于铺有双层滤纸、含有不同浓度 NaCl(0、50、100、150、200、250 mmol/L)的培养皿中,每皿播 50 粒种子。共 6 个盐胁迫处理,每个处理 5 次重复。将种子统一置于(25±1)℃、相对湿度 85%—90%的恒温培养箱培养 7 d。种子培养期间,每天统计发芽种子数,定时补充相应的 NaCl 溶液,于培养 7 d 后计算其发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数,测定根长。

1.2.2 H₂O₂ 浸种处理

根据 1.2.1 实验结果,选用 100 mmol/L NaCl 溶液处理小白菜种子。精选均一饱满的健康小白菜种子,0.5%的 NaClO 溶液消毒 10min,蒸馏水反复冲洗干净后,用滤纸小心的将小白菜种子表面水分吸干,分别用 5、10、25、50 和 100 mmol/L H₂O₂ 溶液浸种 2 h,同时以蒸馏水浸种处理 2 h 为浸种对照。将浸好的小白菜种子用蒸馏水冲洗 3—5 次后,用滤纸轻轻吸干种子上的残留水分,然后将种子分别均匀播于铺有两层滤纸、含有 100 mmol/L NaCl 的培养皿中,每皿播 50 粒种子。以蒸馏水为对照,共 7 个处理,分别为:蒸馏水浸种非 NaCl 胁迫处理(CK)、蒸馏水浸种 NaCl 胁迫处理(NaCl)、5 mmol/L H₂O₂ 浸种 NaCl 胁迫处理(T1)、10 mmol/L H₂O₂ 浸种 NaCl 胁迫处理(T2)、25 mmol/L H₂O₂ 浸种 NaCl 胁迫处理(T3)、50 mmol/L H₂O₂ 浸种 NaCl 胁迫处理(T4)和 100 mmol/L H₂O₂ 浸种 NaCl 胁迫处理(T5),每个处理重复 5 次。将种子统一置于相对湿度为 85%—90%、温度为(25±1)℃的恒温培养箱中萌发培养 7 d。种子培养期间,每天观察记录发芽数,定时补充 NaCl 溶液。种子培养 7 d 后,计算每个处理种子的发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数,测定每个处理中小白菜幼苗的胚根和胚芽的长度和鲜重。此外,各处理另设 12 个重复于培养 7 d 后取小白菜根和芽样品用于相关生理指标测定。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 种子萌发指标测定

种子发芽以胚根长 2 mm 作为发芽标准,小白菜种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数计算参考杨波等^[8],耐性指数和相对盐害率参考李志萍等^[20],公式如下:

$$\text{发芽率}(\%) = (\text{第 7 天发芽种子数} / \text{供试种子总数}) \times 100\%$$

$$\text{发芽势}(\%) = (\text{第 3 天的发芽种子数} / \text{供试种子总数}) \times 100\%$$

$$\text{发芽指数} = \sum(t \text{ 天的发芽数} / \text{相应的发芽天数})$$

$$\text{活力指数} = \text{根长度} \times \text{发芽指数}$$

$$\text{耐性指数}(\%) = \frac{\text{活力指数}_{\text{处理}}}{\text{活力指数}_{\text{对照}}} \times 100$$

$$\text{根长相对盐害率}(\%) = (\text{对照根长} - \text{处理根长}) / \text{对照根长} \times 100$$

1.3.2 生长指标测定

萌发试验结束后,从每个处理中随机选取 15 株幼苗,用游标卡尺分别测定根和芽长度,计算平均长度,以 cm 表示;然后分别切取根和芽,采用万分之一天平称量鲜重,计算平均值,表示为 mg/株。

1.3.3 MDA 含量测定

采用硫代巴比妥酸法测定^[21]。取 0.1 g 样品,加入 10% TCA 迅速研磨,12 000 g 离心 10 min 后,取上清和 10% TCA 各 2 mL 于另一空离心管中,加盖煮沸 15 min,冰浴冷却后再次 3 000 r/min 离心 10 min,取上清

测定 532、600 nm 处的吸光值。

1.3.4 H_2O_2 含量和超氧阴离子产生速率

H_2O_2 含量测定参照邹琦的方法^[21],并稍作改动。取 0.2 g 样品,加入 2 mL 预冷丙酮,充分研磨匀浆后,10 000 r/min 离心 10 min,取 1 mL 上清液加入 5% 硫酸钛和浓氨水,5 000 r/min 离心 10 min 后,将沉淀溶于 3 mL 1 mol/L 的硫酸中,410 nm 下测定吸光度。

超氧阴离子(O_2^-)产生速率用羟胺法^[21],取 0.2 g 样品加入 2 mL 磷酸缓冲液,充分研磨后转入离心管,10 000 r/min 下离心 15 min,取上清液后测定。将 0.1 mL 10 mmol/L NH_4HCl 加入到 1 mL 上清液中,20 ℃ 下培养 20 min,取 0.5 mL 的培养液加入 0.5 mL 17 mmol/L 对氨基苯磺酸和 0.5 mL 7 mmol/L α -萘胺,20 ℃ 下反应 20 min,反应后的显色液用同体积的正丁醇充分摇匀,静置分层后,取正丁醇相在 530 nm 处测定吸光度。

1.3.5 抗氧化酶活性测定

酶液的提取:取 0.1 g 样品,放入预冷的研钵中,加适量预冷的 50 mmol/L 磷酸缓冲液(含 1% PVP、100 $\mu\text{mol/L}$ EDTA、5 mmol/L DTT,pH 7.0),冰浴研磨成匀浆,在 4 ℃ 下,12 000×g 离心 20 min。上清液即为酶待测液。

SOD(superoxide dismutase)采用氮蓝四唑(NBT)光还原法的测定^[22],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。POD(peroxidase)的测定采用愈创木酚比色法,以每 1 min 内 A470 变化 0.01 为一个过氧化物酶活性单位^[22]。CAT(catalase)的测定采用紫外吸收法,以 1 min 内 A240 减少 0.1 的酶量为一个酶活性单位^[22]。APX(ascorbate peroxidase)的测定采用紫外吸收法,以 1 min 内 A290 减少 0.01 的酶量为一个酶活性单位^[22]。

1.3.6 脯氨酸和可溶性糖含量

采用酸性茚三酮显色法测定^[22]。取 0.1 g 样品,加入 3% 茚基水杨酸研磨,沸水浴浸提 10 min,冷却后上清液即为脯氨酸的提取液,取 2 mL 上清液,加 2 mL 冰乙酸和 3 mL 2.5% 的酸性茚三酮,沸水浴显色 40 min,冷却,加 5 mL 甲苯,振荡 30 s,静置萃取,取上层溶液在 520 nm 处测定吸光度。

可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法^[22]。取 0.2 g 样品,用 80% 酒精水浴中提取 30 min,冷却至室温后 4 000 r/min 下离心 10 min,上清液转入至 25 mL 容量瓶,反复浸提 3 次,合并上清液,定容至 25 mL。取浸提液 1 mL 试液于试管,加入 5 mL 蒽酮硫酸试剂,90 ℃ 水浴 10 min,冷却后在 620 nm 处测定吸光度。

1.3.7 Na^+ 和 K^+ 含量

Na^+ 和 K^+ 含量的测定采用火焰光度计法测定。取 0.1 g 烘干样品,加 5 mL 硫酸,沙浴 2 h,然后用电热板进行消煮,每隔 30 min 加入 1 mL H_2O_2 ,直至混合液无色透明,然后用蒸馏水定容至 50 mL,用火焰光度计法测定 Na^+ 和 K^+ 含量。

1.4 数据处理

试验数据统计分析采用 Microsoft Excel 2010 进行原始数据处理,用 SPSS 16.0 分析软件进行单因素方差分析,采用 Duncan 方法进行多重比较及差异显著性检验($\alpha=0.05$),图表中数据为平均值±标准误。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫对小白菜种子萌发的影响

从表 1 可以看出,小白菜种子的发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数和根长均随着 NaCl 胁迫浓度的升高而逐渐降低。与对照相比,高于 150 mmol/L NaCl 胁迫下,小白菜种子的发芽率明显降低($P<0.05$);高于 100 mmol/L NaCl 胁迫显著抑制小白菜种子的发芽势和发芽指数($P<0.05$)。不同浓度 NaCl 胁迫明显抑制小白菜种子的活力指数和萌发幼苗的根长($P<0.05$),与对照相比,在 50、100、150、200 和 300 mmol/L NaCl 处理下小白菜种子的活力指数分别降低了 30.45%、54.26%、67.79%、79.89% 和 89.17%,根长分别降低了 28.09%、47.12%、58.41%、68.58% 和 78.32%。综合来看,100 mmol/L NaCl 胁迫显著抑制小白菜种子的发芽率、发芽

势、发芽指数和活力指数,且对活力指数和根长的抑制程度约为 50%,因此本试验选用 100 mmol/L NaCl 溶液作为小白菜种子盐处理的胁迫浓度。

表 1 不同浓度 NaCl 胁迫对小白菜种子萌发状况的影响

Table 1 Effects of different concentrations of NaCl stress on germination of pakchoi seeds

NaCl 浓度 NaCl concentration/ (mmol/L)	发芽率 Germination percentage/%	发芽势 Germination potential/%	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigour index	根长 Root length/cm
0 (CK)	92.80±3.03 ^a	90.40±3.24 ^a	39.40±2.35 ^a	178.09±15.55 ^a	4.52±0.43 ^a
50	90.40±3.84 ^{a,b}	88.40±2.28 ^{a,b}	38.11±1.31 ^a	123.86±12.84 ^b	3.25±0.39 ^b
100	88.00±4.29 ^{a,b}	83.40±2.72 ^{b,c}	34.08±1.98 ^b	81.45±9.66 ^c	2.39±0.31 ^c
150	85.20±2.28 ^{b,c}	78.80±2.00 ^c	30.51±2.02 ^c	57.36±7.77 ^d	1.88±0.26 ^{cd}
200	80.40±4.97 ^c	72.20±4.40 ^d	25.22±1.59 ^d	35.81±5.05 ^e	1.42±0.22 ^d
250	71.20±3.15 ^d	61.80±3.24 ^e	19.68±1.40 ^e	19.29±3.23 ^f	0.98±0.20 ^e

表中数据为平均值±标准误;同列不同小写字母表示差异性显著 ($P<0.05$)

2.2 H₂O₂对 NaCl 胁迫下小白菜种子萌发的影响

由表 2 可以看出,单独 100 mmol/L NaCl 处理对小白菜种子萌发率无明显抑制作用 ($P>0.05$),但明显降低了小白菜种子的发芽势、发芽指数和活力指数 ($P<0.05$),分别较对照降低了 7.74%、13.50% 和 54.26%。T1—T5 处理均提高了 NaCl 胁迫下小白菜种子的发芽势、发芽指数和活力指数,其中以 T2 处理的缓解 NaCl 胁迫效果最显著 ($P<0.05$),其发芽势、发芽指数和活力指数比单独 NaCl 处理分别提高了 7.91%、14.67% 和 78.19%。由 T1 到 T5 处理,随着 H₂O₂ 处理浓度的增加,其对 NaCl 胁迫下小白菜种子萌发的缓解作用呈先增强后减弱的趋势,虽然 T4 和 T5 处理也提高了 NaCl 胁迫下小白菜种子的发芽势、发芽指数和活力指数,然而与单独 NaCl 处理相比并未达到差异显著水平 ($P>0.05$)。这些结果表明, H₂O₂ 可有效缓解 NaCl 胁迫对小白菜种子萌发的抑制作用,且存在浓度效应, T2 处理缓解效果最为明显 (表 2)。

表 2 H₂O₂对 NaCl 胁迫下小白菜种子发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数的影响

Table 2 Effects of H₂O₂ on germination percentage, germination potential, germination index and vigour index of pakchoi seeds under NaCl stress

处理 Treatment	发芽率 Germination percentage/%	发芽势 Germination potential/%	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index
CK	92.80±3.03 ^a	90.40±3.24 ^a	39.40±2.35 ^a	178.09±15.55 ^a
NaCl	88.00±4.29 ^a	83.40±2.72 ^b	34.08±1.98 ^c	81.45±9.66 ^d
T1	90.20±3.68 ^a	87.80±3.54 ^{ab}	37.22±1.97 ^{bc}	117.78±10.71 ^c
T2	93.20±4.24 ^a	90.00±2.88 ^a	39.08±2.21 ^{ab}	145.14±13.28 ^b
T3	90.60±5.77 ^a	87.60±3.23 ^{ab}	37.79±1.88 ^{bc}	116.12±12.98 ^c
T4	89.20±2.88 ^a	86.40±3.15 ^{ab}	35.41±1.48 ^{bc}	97.60±10.98 ^{cd}
T5	88.40±3.56 ^a	85.80±2.74 ^{ab}	34.83±1.62 ^c	90.79±8.76 ^d

CK:蒸馏水对照, Control; NaCl: 100 mmol/L NaCl; T1: 100 mmol/L NaCl+5 mmol/L H₂O₂; T2: 100 mmol/L NaCl+10 mmol/L H₂O₂; T3: 100 mmol/L NaCl+25 mmol/L H₂O₂; T4: 100 mmol/L NaCl+50 mmol/L H₂O₂; T5: 100 mmol/L NaCl+100 mmol/L H₂O₂

2.3 H₂O₂对 NaCl 胁迫下小白菜幼苗根和芽生长的影响

图 1 结果表明单独 NaCl 胁迫明显降低了小白菜幼苗根的生长,根长仅为对照的 52.88% ($P<0.05$)。与单独 NaCl 处理相比, T1—T3 处理明显缓解了 NaCl 胁迫对根长的抑制,且根长表现为先增加后降低的趋势,其中以 T2 处理缓解效果最好,其根长比单独 NaCl 处理高出 55.23% ($P<0.05$),但仍明显低于对照 ($P<0.05$),仅为对照的 82.08%。然而 T4 和 T5 处理的根长与单独 NaCl 处理相比,无明显差异 ($P>0.05$)。单独 NaCl 胁迫明显抑制小白菜幼苗芽长 ($P<0.05$);与单独 NaCl 处理相比, T1—T4 处理不同程度的提高了 NaCl 胁迫下小白菜幼苗的芽长,其中以 T2 处理下芽长最大,比单独 NaCl 处理高出 18.53% ($P<0.05$),仍略低于对照。

单独 NaCl 胁迫明显降低了小白菜幼苗根和芽的鲜重 ($P<0.05$) (图 1), 根和芽鲜重仅为对照的 65.55% 和 82.58%。与单独 NaCl 处理相比, T1—T3 处理明显促进了 NaCl 胁迫下小白菜根和芽鲜重的增加, 其中以 T2 处理增加幅度最大, 为单独 NaCl 处理的 1.34 倍 ($P<0.05$) 和 1.18 倍 ($P<0.05$)。T4 和 T5 处理根和芽鲜重与单独 NaCl 处理相比, 无显著差异 ($P>0.05$)。

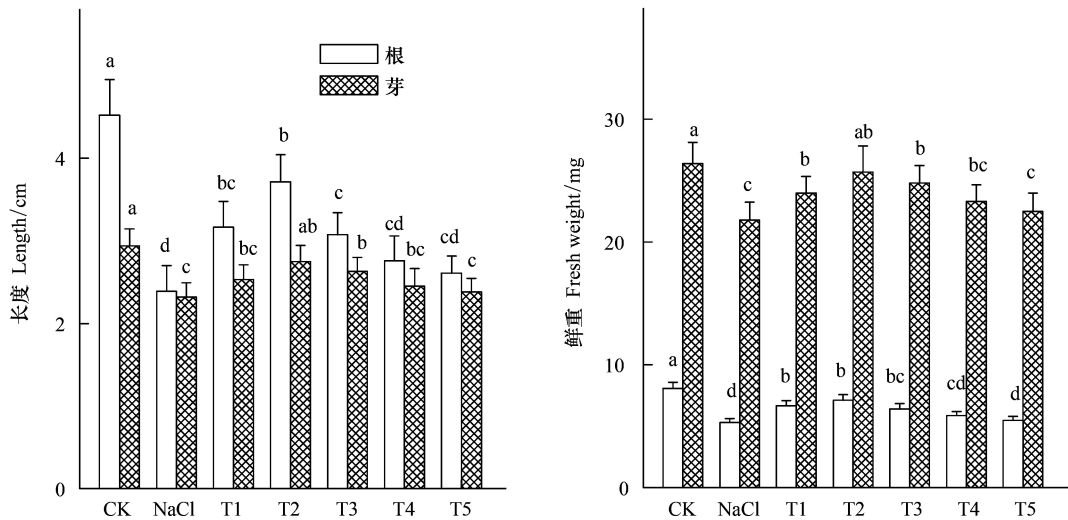


图 1 H₂O₂ 对 NaCl 胁迫下小白菜幼苗根长、芽长、根鲜重与芽鲜重的影响

Fig.1 Effects of H₂O₂ on length and fresh weight of root and shoot of pakchoi seedlings under NaCl stress

不同小写字母表示同一部位不同处理间差异显著 ($P<0.05$), 下同; CK: 蒸馏水对照, Control; NaCl: 100 mmol/L NaCl; T1: 100 mmol/L NaCl+5 mmol/L H₂O₂; T2: 100 mmol/L NaCl+10 mmol/L H₂O₂; T3: 100 mmol/L NaCl+25 mmol/L H₂O₂; T4: 100 mmol/L NaCl+50 mmol/L H₂O₂; T5: 100 mmol/L NaCl+100 mmol/L H₂O₂

2.4 H₂O₂对 NaCl 胁迫下小白菜耐盐指数和相对盐害率的影响

耐盐指数反映种子萌发对盐胁迫的耐受程度, 根长相对盐害率反映萌发后幼苗受胁迫的伤害程度^[20]。从表 3 中看出, 100 mmol/L NaCl 胁迫下, 相对盐害率最大, 为 47.12。由 T1 到 T5 处理, 相对盐害率呈现先下降后增加的趋势, 且均低于单独 NaCl 胁迫处理, 并以 T2 处理的相对盐害率最低, 较单独 NaCl 胁迫处理降低了 62.16%, 差异达显著水平 ($P<0.05$)。与相对盐害率相反, T1—T5 处理不同程度的提高了 NaCl 胁迫下小白菜种子的耐盐指数, 且 T2 处理提高幅度最大, 是单独 NaCl 胁迫处理的 1.78 倍, 差异达显著水平 ($P<0.05$)。

表 3 H₂O₂处理对 NaCl 胁迫下小白菜种子耐盐指数和相对盐害率的影响

Table 3 Effects of H₂O₂ on salt tolerance index and relative salt-harmed rate of pakchoi seeds under NaCl stress

处理 Treatment	耐盐指数 Salt tolerance index	相对盐害率 Relative salt-harmed rate	处理 Treatment	耐盐指数 Salt tolerance index	相对盐害率 Relative salt-harmed rate
CK	100	0	T3	65.20	32.02
NaCl	45.74	47.12	T4	54.80	39.02
T1	66.14	29.99	T5	50.98	42.33
T2	81.49	17.83			

2.5 H₂O₂对 NaCl 胁迫下小白菜幼苗 MDA 含量的影响

MDA 是膜脂氧化的主要产物, 其含量可以反映植物在逆境胁迫下受伤害的程度。图 2 结果表明, 单独 NaCl 胁迫导致小白菜幼苗根和芽中 MDA 含量明显增加 ($P<0.05$), 且幼根中的 MDA 含量大于幼芽, 分别为对照的 1.76 倍和 1.29 倍。H₂O₂ 浸种处理降低了 NaCl 胁迫下根和芽中 MDA 含量, 且随着 H₂O₂ 处理浓度的增加, 根和芽中 MDA 含量呈现先降低后增加的变化。各 H₂O₂ 处理相比, 以 T2 处理中 MDA 含量最低, 其根和芽

中 MDA 含量比单独 NaCl 处理分别降低了 33.72% ($P<0.05$) 和 18.48% ($P<0.05$), 但仍高于对照。

2.6 H_2O_2 对 NaCl 胁迫下小白菜幼苗活性氧积累的影响

逆境胁迫能迅速诱导植物体内产生活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS), 打破植物体内 ROS 的动态平衡, 对脂类、蛋白质以及核酸产生氧化损伤, 进而导致细胞膜系统受到破坏, 蛋白质及核酸等生物大分子变性, 酶活性丧失, 新陈代谢受阻^[16]。由图 3 可知, NaCl 胁迫造成小白菜幼苗体内 ROS 的积累, 明显提高了小白菜幼根和芽中内源 H_2O_2 含量和 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率 ($P<0.05$)。T1—T4 处理均明显降低了 NaCl 胁迫下小白菜幼苗根和芽中 H_2O_2 含量和 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率 ($P<0.05$), 其中 T2 处理对 NaCl 胁迫下小白菜幼苗根和芽中 H_2O_2 含量和 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率降低作用最大, 与单独 NaCl 胁迫相比, 小白菜根和芽中 H_2O_2 含量分别降低了 42.22% 和 25.08%, 根和芽中 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率分别降低了 46.04% 和 28.04%。表明适宜浓度的 H_2O_2 浸种可降低小白菜根和芽中的 ROS 含量。

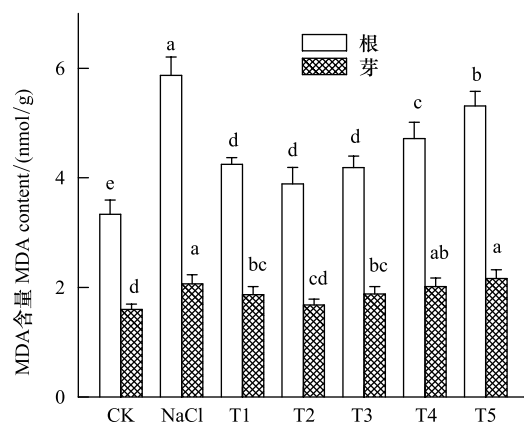


图 2 H_2O_2 对 NaCl 胁迫下小白菜幼苗根和芽中 MDA 含量的影响

Fig.2 Effect of H_2O_2 on MDA content in root and shoot of pakchoi seedlings under NaCl stress

MDA: 丙二醛, Malonaldehyde

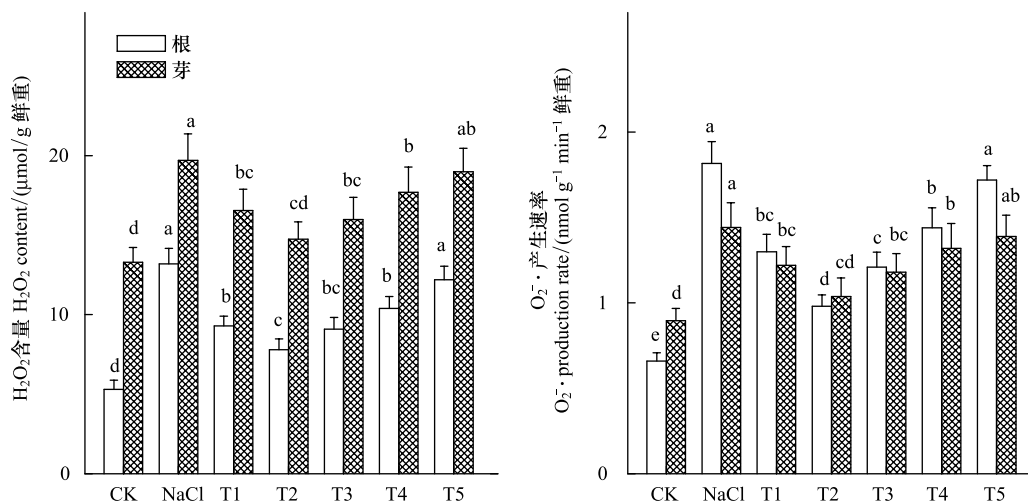


图 3 H_2O_2 对 NaCl 胁迫下小白菜幼苗根和芽中 H_2O_2 含量和 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率的影响

Fig.3 Effects of H_2O_2 on the H_2O_2 content and $O_2^{\cdot-}$ production rate in the seedlings of pakchoi under NaCl stress

H_2O_2 : 过氧化氢, Hydrogen peroxide; $O_2^{\cdot-}$: 超氧阴离子自由基, Superoxide anion free radical

2.7 H_2O_2 对 NaCl 胁迫下小白菜幼苗抗氧化酶活性的影响

图 4 结果表明, NaCl 胁迫明显提高了小白菜幼苗根和芽中 SOD、POD 和 APX 活性 ($P<0.05$)。T1—T4 处理进一步提高了 NaCl 胁迫下小白菜根和芽中 SOD 和 APX 活性, 其中 T2 处理下 SOD 和 APX 活性增幅最大, 根和芽中 SOD、APX 活性分别较单独 NaCl 处理增加了 30.41% 和 32.68%、49.41% 和 30.92%。与 SOD 和 APX 活性相反, T1—T4 处理明显降低了 NaCl 胁迫下小白菜根和芽中 POD 活性 ($P<0.05$), 特别是 T2 处理, 但均高于对照 ($P<0.05$)。

NaCl 胁迫明显抑制了小白菜幼苗根和芽中 CAT 活性 ($P<0.05$)。但 T1—T4 处理明显提高了 NaCl 胁迫

下小白菜根中 CAT 活性 ($P<0.05$), 与单独 NaCl 处理相比, 根中 CAT 活性增加了 18.43%—49.41%; T1—T3 处理明显提高了 NaCl 胁迫下小白菜芽中 CAT 活性 ($P<0.05$), 与单独 NaCl 处理相比, 芽中 CAT 活性增加了 16.46%—28.10%。

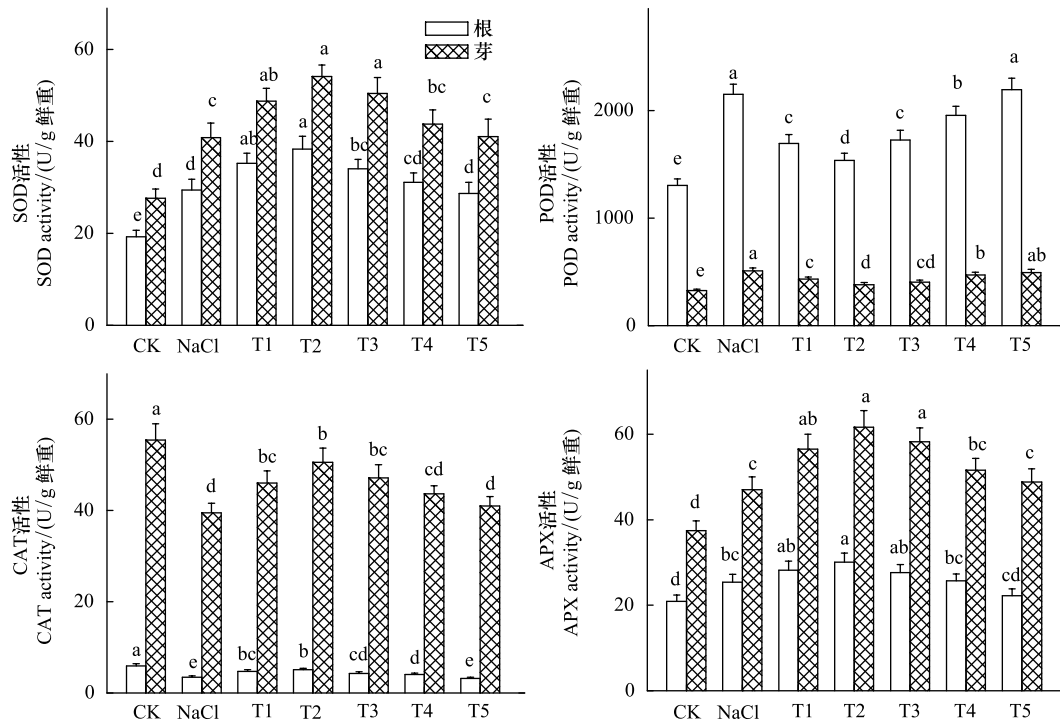


图4 H_2O_2 对 NaCl 胁迫下小白菜幼苗根和芽中 SOD、POD、CAT 和 APX 活性的影响

Fig.4 Effects of H_2O_2 on activities of SOD、POD、CAT and APX in root and shoot of pakchoi seedlings under NaCl stress

SOD: 超氧化物歧化酶, Superoxide dismutase; POD: 过氧化物酶, Peroxidase; CAT: 过氧化酶, Catalase; APX: 抗坏血酸过氧化物酶, Ascorbate peroxidase

2.8 H_2O_2 对 NaCl 胁迫下小白菜幼苗渗透调节物质含量的影响

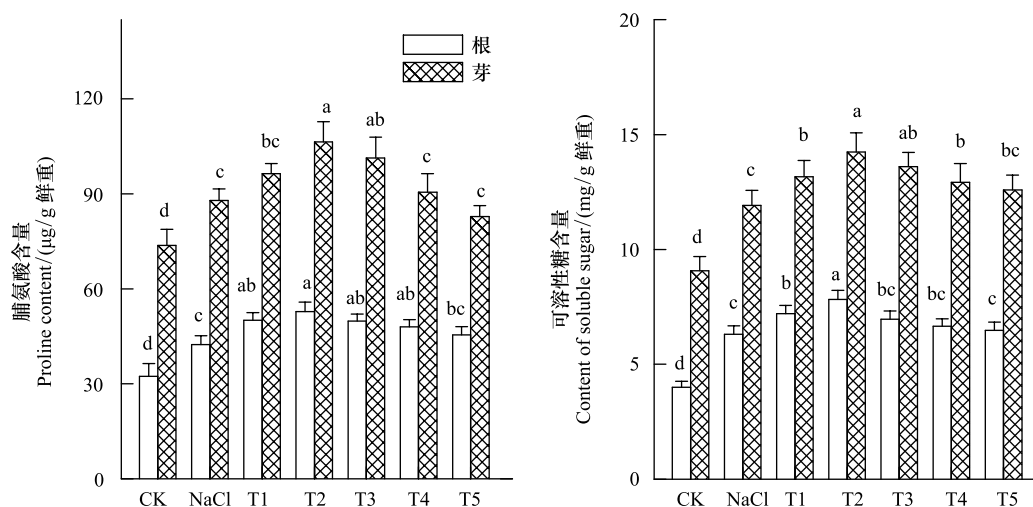
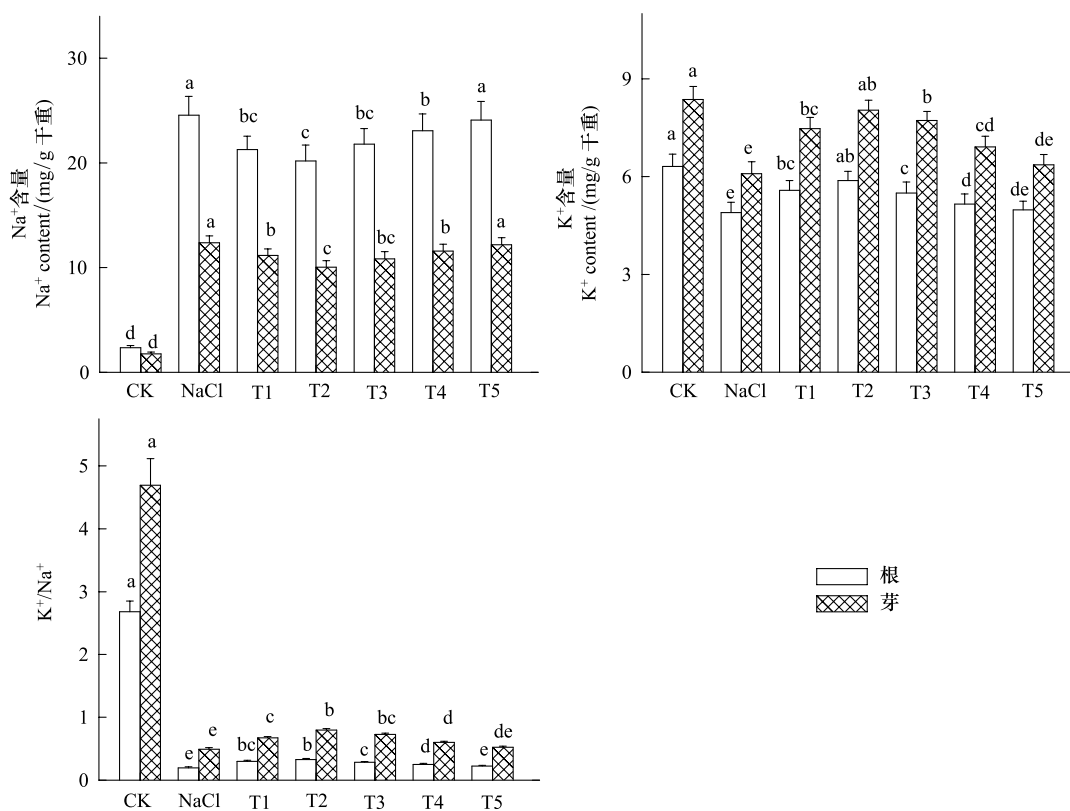
脯氨酸和可溶性糖是植物体内重要的渗透调节剂, 能降低细胞的渗透势, 提高植物组织的持水力, 保持细胞膜结构, 其含量的高低与植物的抗逆性密切相关^[23]。图 5 结果表明, NaCl 胁迫下, 小白菜幼苗根和芽中脯氨酸和可溶性糖含量均明显增加 ($P<0.05$), 其中根中脯氨酸和可溶性糖含量的增加幅度较芽中大。T1—T4 处理促进了小白菜幼苗根和芽中脯氨酸和可溶性糖含量的进一步增加 ($P<0.05$), 其中以 T2 处理下小白菜幼苗根和芽中脯氨酸和可溶性糖含量增加最大, 分别比单独 NaCl 处理高出 24.85% 和 20.96%、24.01% 和 19.45%。

2.9 外源 H_2O_2 对 NaCl 胁迫下小白菜幼苗根和芽中 Na^+ 、 K^+ 含量及 K^+/Na^+ 的影响

由图 6 可知, 100 mmol/L NaCl 胁迫下, 小白菜幼苗根和芽中 Na^+ 含量明显增加 ($P<0.05$), 伴随着 Na^+ 含量的增加, K^+ 含量及 K^+/Na^+ 显著下降 ($P<0.05$)。T1—T4 处理明显降低了小白菜幼苗根和芽中 Na^+ 含量, 而明显增加了 K^+ 含量, 同时提高了 K^+/Na^+ , 特别是 T2 处理, 小白菜幼苗根和芽中 Na^+ 含量较单独 NaCl 胁迫分别降低了 17.75% 和 18.82%, 根和芽中 K^+ 含量分别提高了 19.84% 和 31.98%, K^+/Na^+ 分别提高了 44.28% 和 62.57%, 差异显著 ($P<0.05$)。由此可知, 一定浓度的 H_2O_2 可提高 NaCl 胁迫下小白菜体内 K^+ 含量, 降低 Na^+ 含量, 进而提高小白菜幼苗根和芽中 K^+/Na^+ , 从而提高植物的耐盐性。

3 讨论

盐胁迫是制约植物生长发育的主要非生物胁迫之一, 也是当今制约农作物生产的严峻环境问题^[1], 它可

图 5 H_2O_2 对 NaCl 胁迫下小白菜幼苗根和芽中脯氨酸和可溶性糖含量的影响Fig.5 Effects of H_2O_2 on the content of proline and soluble sugar in root and shoot of pakchoi seedlings under NaCl stress图 6 H_2O_2 对 NaCl 胁迫下小白菜幼苗根和芽中 Na^+ 、 K^+ 含量和 K^+/Na^+ 的影响Fig.6 Effects of H_2O_2 on the Na^+ and K^+ contents and K^+/Na^+ in root and shoot of pakchoi seedlings under NaCl stress

直接或间接通过影响植物的代谢活动,如细胞活性氧代谢失衡、生物大分子损伤、抑制光合和呼吸代谢等,进而影响植物的生长发育及最终产量^[2, 11]。种子萌发及幼苗生长是植物生命周期的开始阶段,盐胁迫会使种子活力受到严重的影响^[6]。本研究表明,不同浓度的 NaCl 胁迫不同程度的抑制了小白菜种子萌发特性(表 1)。100 mmol/L 的 NaCl 胁迫下小白菜的萌发虽然未受明显影响,但种子的发芽势、发芽指数和活力指数明显受到抑制(表 1)。这与 NaCl 胁迫对番茄^[24]和油菜^[25]的影响结果相一致。此外,NaCl 胁迫下小白菜根长

明显受到抑制(表 1),可能与 NaCl 胁迫减少植物对水分的可利用性、离子毒害、抑制细胞的生长和分裂有关^[2, 26]。

H₂O₂是活性氧信号转导途径中的一个重要内源信号分子,具有多种生理功能,在植物抵抗逆境胁迫起着重要作用。已有研究表明,H₂O₂预处理可以促进盐胁迫下小麦^[16, 27]、燕麦^[28]和羽衣甘蓝^[29]的生长。然而由于作物种类和处理方式的不同,缓解盐胁迫的最适H₂O₂浓度也不同。本研究采用不同浓度外源H₂O₂处理种子,在 100 mmol/L NaCl 胁迫下小白菜种子的发芽势、发芽指数、活力指数及根和芽的生长均有所提高(表 2、图 1),且均表现为随着H₂O₂处理浓度的提高先增加后降低的趋势,有效缓解了 NaCl 胁迫对小白菜种子萌发和幼苗产生的伤害,提高种子和幼苗的耐盐能力(表 3),其中 10 mmol/L H₂O₂缓解作用最为明显。

逆境胁迫常常导致植物体内活性氧的产生和清除失衡,造成自由基过量累积,膜脂过氧化作用的加剧,从而对植物的生长产生伤害^[8]。本研究表明,NaCl 胁迫明显抑制了小白菜幼苗根和芽中 CAT 活性(图 4),根和芽中H₂O₂含量、O₂⁻产生速率和 MDA 含量明显增加(图 2—3),说明 NaCl 胁迫使小白菜幼苗受到严重的氧化损伤。而 SOD、POD 和 APX 活性明显增强(图 4),这是小白菜幼苗保护酶系统应激反应的表现。H₂O₂可以通过激活逆境胁迫下植物体内的细胞保护酶系统来抵制过多 ROS 对机体的伤害,如盐、干旱、高温、重金属和水淹等^[14]。有研究表明 0.05 mmol/L 外源H₂O₂处理提高了盐胁迫下羽衣甘蓝幼苗体内的 SOD、APX 和 CAT 活性及其基因表达水平,缓解了盐胁迫对羽衣甘蓝幼苗生长的抑制作用^[29]。Li 等研究也发现,小麦幼苗经 H₂O₂预处理培养后,可以促进盐胁迫下体内 SOD、POD、CAT 活性和非酶保护物质的增加,从而有效抑制 MDA 积累和阻止脂质过氧化作用,保护细胞免受盐胁迫造成的氧化损伤^[16]。本研究结果发现外源H₂O₂浸种处理不同程度的提高了 NaCl 胁迫下小白菜根和芽中的 SOD、CAT 和 APX 活性(图 4),降低了H₂O₂含量和 O₂⁻产生速率(图 3),减少了 MDA 的积累(图 2),尤其以 10mmol/L 的 H₂O₂效果最明显,表明H₂O₂是盐胁迫下小白菜抗氧化防护系统的重要调控因子,可能是H₂O₂作为信号分子参与了小白菜抗氧化相关基因表达的调控^[30]。

在盐胁迫下,植物细胞会发生渗透胁迫,植物通过积累各种有机渗透调节物质含量来维持渗透平衡,保护细胞结构,提高自身耐受性^[20]。脯氨酸是一种重要的细胞渗透调节物质,具有多种生物功能,参与渗透调节、蛋白质构成、保护细胞膜完整性、稳定酶和蛋白质以及清除自由基^[13, 15]。可溶性糖既是渗透调节剂,也是合成其他有机溶质的碳架和能量的来源,还可在细胞内无机离子浓度高时起保护酶类的作用。有研究表明盐胁迫可以诱导番茄^[10]、油菜^[25]植物体内脯氨酸和可溶性糖含量的增加。Sun 等研究表明H₂O₂处理可以提高干旱胁迫下黄瓜幼苗体内脯氨酸和可溶性糖含量,提高其抗干旱能力^[15]。Wen 等研究表明外源H₂O₂处理提高了 Cu 胁迫下玉米幼苗叶片中脯氨酸和可溶性糖含量,从而提高 CuCl₂胁迫下甜玉米幼苗根和芽的生长^[13]。刘建新等研究发现外源H₂O₂通过活化脯氨酸合成的谷氨酸途径和鸟氨酸途径,抑制脯氨酸的降解,促进混合盐碱胁迫下燕麦幼苗脯氨酸的积累^[31]。本研究结果表明,在 NaCl 胁迫下,适宜浓度的H₂O₂浸种处理可以进一步诱导小白菜根和芽中脯氨酸和可溶性糖含量的增加(图 5)。脯氨酸和可溶性糖含量增加可提高细胞的渗透调节能力,从而提高小白菜幼苗的耐盐能力。

许多研究表明H₂O₂作为一种活性氧,在参与调节植物生理代谢和抗性反应中具有明显的浓度效应。有研究表明 1—5 mmol/L H₂O₂促进盐胁迫下水稻幼苗根系中 APX、SOD 和 CAT 活性的增加,但是 10 mmol/L H₂O₂则降低其对抗氧化酶的促进作用^[30]。低浓度 H₂O₂处理促进了盐胁迫下人参根长、干物质重、叶绿素和类胡萝卜素含量,然而高浓度则产生明显的抑制作用^[11]。本研究发现H₂O₂通过提高小白菜幼苗体内抗氧化酶活性和游离脯氨酸含量,降低细胞膜脂质过氧化作用,促进萌发种子胚根和胚芽的生长。随着H₂O₂处理浓度的增加,则缓解作用先增强后降低,以 10mmol/L 的 H₂O₂效果最好。

保持植物体及细胞内的离子平衡对植物正常的生长至关重要。在盐胁迫下植物通常吸收 Na⁺的同时抑制 K⁺吸收^[32-33]。本研究发现,NaCl 胁迫下小白菜幼苗根和芽中 K⁺含量显著降低,Na⁺含量显著增加,K⁺/Na⁺明显低于对照(图 6)。研究认为,植物耐盐能力的强弱与 Na⁺、K⁺的选择性吸收密切相关,限制 Na⁺进入体内,选择性的吸收 K⁺,才能提高其耐盐能力^[34]。本研究结果表明,外源H₂O₂可不同程度的提高 NaCl 胁迫下小白

菜幼苗根和芽中 K⁺ 含量,降低 Na⁺ 含量,K⁺/Na⁺ 显著增加(图 6)。K⁺/Na⁺ 离子平衡可能与 H₂O₂ 处理提高盐胁迫下小白菜幼苗抗氧化能力,减轻了细胞质膜的损伤,维持了细胞膜的完整性,保护膜上转运蛋白有关^[6],从而提高了幼苗对 Na⁺、K⁺ 选择性吸收能力^[33]。该结果有待进一步验证。

综上所述,NaCl 胁迫下外源 H₂O₂ 浸种通过提高抗氧化酶活性和渗透调节物质含量,降低活性氧的积累及膜脂过氧化,维持 K⁺/Na⁺ 离子平衡,缓解 NaCl 胁迫对小白菜幼苗细胞的伤害,促进 NaCl 胁迫下小白菜种子萌发和幼苗生长,其中 10 mmol/L 的 H₂O₂ 效果最好。

参考文献 (References):

- [1] 王佳珍,刘倩,高妮妮,柳旭. 植物对盐碱胁迫的响应机制研究进展. 生态学报, 2017, 37(16): 5565-5577.
- [2] Parvin S, Lee O R, Sathiyaraj G, Khorolragchaa A, Kim Y J, Yang D C. Spermidine alleviates the growth of saline-stressed ginseng seedlings through antioxidative defense system. Gene, 2014, 537(1): 70-78.
- [3] Ashraf M A, Akbar A, Parveen A, Rasheed R, Hussain I, Iqbal M. Phenological application of selenium differentially improves growth, oxidative defense and ion homeostasis in maize under salinity stress. Plant Physiology and Biochemistry, 2018, 123: 268-280.
- [4] Muchate N S, Nikalje G C, Rajurkar N S, Suprasanna P, Nikam T D. Plant salt stress: adaptive responses, tolerance mechanism and bioengineering for salt tolerance. The Botanical Review, 2016, 82(4): 371-406.
- [5] Nusrat N, Shahbaz M, Perveen S. Modulation in growth, photosynthetic efficiency, activity of antioxidants and mineral ions by foliar application of glycinebetaine on pea (*Pisum sativum* L.) under salt stress. Acta Physiologiae Plantarum, 2014, 36(11): 2985-2998.
- [6] 赵莹,杨克军,李佐同,赵长江,徐晶宇,胡雪微,石新新,马丽峰. 外源糖浸种缓解盐胁迫下玉米种子萌发. 应用生态学报, 2015, 26(9): 2735-2742.
- [7] 高青海,郭远远,吴燕,贾双双. 盐胁迫下外源褪黑素和 Ca²⁺ 对甜瓜幼苗的缓解效应. 应用生态学报, 2017, 28(6): 1925-1931.
- [8] 杨波,何俊瑜,任艳芳,王艳玲,田丹. 过氧化氢对镉胁迫下水稻种子萌发的缓解效应. 植物生理学报, 2018, 54(6): 1111-1118.
- [9] You J, Chan Z L. ROS regulation during abiotic stress responses in crop plants. Frontiers in Plant Science, 2015, 6: 1092.
- [10] 蔺亚平,林海荣,崔辉梅. 外源 H₂S 和 H₂O₂ 对 NaCl 胁迫下加工番茄幼苗生理特性的影响. 华北农学报, 2018, 33(3): 159-166.
- [11] Sathiyaraj G, Srinivasan S, Kim Y J, Lee O R, Parvin S, Balusamy S R D, Khorolragchaa A, Yang D C. Acclimation of hydrogen peroxide enhances salt tolerance by activating defense-related proteins in *Panax ginseng* C.A. Meyer. Molecular Biology Reports, 2014, 41(6): 3761-3771.
- [12] Sun C, Liu L, Lu L, Jin C, Lin X. Nitric oxide acts downstream of hydrogen peroxide in regulating aluminum induced antioxidant defense that enhances aluminum resistance in wheat seedlings. Environmental and Experimental Botany, 2018, 145: 95-103.
- [13] Wen J F, Gong M, Liu Y, Hu J L, Deng M H. Effect of hydrogen peroxide on growth and activity of some enzymes involved in proline metabolism of sweet corn seedlings under copper stress. Scientia Horticulturae, 2013, 164: 366-371.
- [14] Andrade C A, de Souza K R D, de Oliveira Santos M, da Silva D M, Alves J D. Hydrogen peroxide promotes the tolerance of soybeans to waterlogging. Scientia Horticulturae, 2018, 232: 40-45.
- [15] Sun Y, Wang H, Liu S, Peng X. Exogenous application of hydrogen peroxide alleviates drought stress in cucumber seedlings. South African Journal of Botany, 2016, 106: 23-28.
- [16] Li J T, Qiu Z B, Zhang X W, Wang L S. Exogenous hydrogen peroxide can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. Acta Physiologiae Plantarum, 2011, 33(3): 835-842.
- [17] Shan C J, Liu R Q. Exogenous hydrogen peroxide up-regulates the contents of ascorbate and glutathione in the leaves of *Vigna radiata* (Linn.) Wilczek. exposed to salt stress. Brazilian Journal of Botany, 2017, 40(2): 583-589.
- [18] Christou A, Manganaris G A, Fotopoulos V. Systemic mitigation of salt stress by hydrogen peroxide and sodium nitroprusside in strawberry plants via transcriptional regulation of enzymatic and non-enzymatic antioxidants. Environmental and Experimental Botany, 2014, 107: 46-54.
- [19] 徐芬芬,叶利民,夏晓蕾. 小白菜抗盐胁迫的根系响应机制. 干旱地区农业研究, 2017, 35(3): 178-181, 189.
- [20] 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.
- [21] 何俊瑜,任艳芳,朱诚期,蒋德安. 镉胁迫对镉敏感水稻突变体活性氧代谢及抗氧化酶活性的影响. 生态环境, 2008, 17(3): 1004-1008.
- [22] 邹琦. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业出版社, 2003: 111-112, 161-172.
- [23] 姚海梅,李永生,张同祯,赵娟,王婵,王汉宁,方永丰. 早-盐复合胁迫对玉米种子萌发和生理特性的影响. 应用生态学报, 2016, 27(7): 2301-2307.
- [24] 赵艳艳,胡晓辉,邹志荣,燕飞. 不同浓度 5-氨基乙酞丙酸 (ALA) 浸种对 NaCl 胁迫下番茄种子发芽率及芽苗生长的影响. 生态学报, 2013, 33(1): 62-70.

- [25] Fang Y, Li J, Jiang J, Geng Y, Wang J, Wang Y. Physiological and epigenetic analyses of *Brassica napus* seed germination in response to salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2017, 39(6): 128.
- [26] 任艳芳, 何俊瑜. NaCl 胁迫对莴苣幼苗生长和光合性能的影响. *华北农学报*, 2008, 23(4): 149-153.
- [27] Wahid A, Perveen M, Gelani S, Basra S M A. Pretreatment of seed with H₂O₂ improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164(3): 283-294.
- [28] Xu Q, Xu X, Zhao Y, Jiao K, Herbert S J, Hao L. Salicylic acid, hydrogen peroxide and calcium-induced saline tolerance associated with endogenous hydrogen peroxide homeostasis in naked oat seedlings. *Plant Growth Regulation*, 2008, 54(3): 249-259.
- [29] 李伟, 郭君洁, 李鸿雁. H₂O₂ 对盐胁迫下羽衣甘蓝幼苗生长的影响. *江苏农业科学*, 2017, 45(22): 149-152.
- [30] Wang X M, Hou C, Liu J, He W L, Nan W B, Gong H L, Bi Y R. Hydrogen peroxide is involved in the regulation of rice (*Oryza sativa* L.) tolerance to salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2013, 35(3): 891-900.
- [31] 刘建新, 王金成, 刘秀丽, 王凤琴. 外源H₂O₂对混合盐碱胁迫下燕麦幼苗叶片脯氨酸积累和代谢途径的影响. *植物研究*, 2016, 36(3): 427-433.
- [32] Shi D C, Sheng Y M. Effect of various salt-alkaline mixed stress conditions on sunflower seedlings and analysis of their stress factors. *Environmental and Experimental Botany*, 2005, 54(1): 8-21.
- [33] 杨小环, 马金虎, 郭数进, 李新基, 李盛. 种子引发对盐胁迫下高粱种子萌发及幼苗生长的影响. *中国生态农业学报*, 2011, 19(1): 103-109.
- [34] 莫海波, 殷云龙, 芦治国, 魏秀君, 徐建华. NaCl 胁迫对 4 种豆科树种幼苗生长和 K⁺、Na⁺ 含量的影响. *应用生态学报*, 2011, 22(5): 1155-1161.