

外源 GA_3 对盐胁迫下北美海蓬子种子萌发 及幼苗生长的影响

华 春, 周泉澄, 王小平, 夏 静, 陈 莉

(南京晓庄学院生命科学系, 江苏 南京 210017)

[摘要] 研究了外源 GA_3 对不同浓度的盐胁迫 (NaCl) 下北美海蓬子种子萌发及幼苗生长的影响. 结果表明: 外源 GA_3 促进了盐胁迫条件下北美海蓬子种子萌发. 在外源 GA_3 处理下, 北美海蓬子幼苗中脯氨酸的含量高于单盐处理, 而可溶性蛋白含量影响不大; 抗氧化酶活性、 O_2^- 产生速率值和 MDA 值低于单盐处理, 说明外源 GA_3 可以加强北美海蓬子自身抗胁迫能力, 其主要途径是增加体内的脯氨酸含量起作用. 另外, 在外源 GA_3 处理下的北美海蓬子根系活力显著提高, 说明外源 GA_3 有利于北美海蓬子在盐胁迫下生长.

[关键词] 北美海蓬子, 外源赤霉素, 盐胁迫, 萌发, 幼苗生长

[中图分类号] Q 944 [文献标识码] A [文章编号] 1001-4616(2007) 01-0082-06

Effects of Exogenous GA_3 on Germination and Seedling Growth of *Salicornia Bigelovii* Torr Under NaCl Stress

Hua Chun, Zhou Quancheng, Wang Xiaoping, Xia Jing, Chen Li

(Department of Life Sciences Nanjing Xiaozhuang College Nanjing 210017, China)

Abstract Effects of exogenous GA_3 on seed germination and seedling growth of *Salicornia Bigelovii* Torr under different concentrations of salt (NaCl) stress were studied. The result showed that exogenous GA_3 promoted the seed germination of *Salicornia Bigelovii* Torr under salt stress. Under the treatment of exogenous GA_3 , the activity of antioxidant enzymes, the producing rate of O_2^- and the content of MDA were lower than that of single salt stress. It revealed that exogenous GA_3 could enhance the resist-stress ability of *Salicornia bigelovii* Torr. The content of proline under exogenous GA_3 treatment were higher than that of salt stress treatment but the content of soluble protein changed little which indicated that the exogenous GA_3 alleviated the salt stress mainly by increasing proline content. In addition, root activity were improved notably by exogenous GA_3 treatment which showed that the exogenous GA_3 was advantaged to the growth of *Salicornia Bigelovii* Torr under salt stress.

Key words *Salicornia Bigelovii* Torr, exogenous GA_3 , salt stress, germination, seedling growth

0 引言

北美海蓬子, 又名比吉洛氏海蓬子 (*Salicornia Bigelovii* Torr), 属藜科盐角草属, 一年生双子叶草本植物, 原产美国西部海滨, 后经亚里桑那大学培育、改良, 抗盐能力很强. 目前已在墨西哥、印度、以色列种植成功, 在我国东南部沿海地区也开始试种. 北美海蓬子具有重要的经济价值和生态价值, 其幼嫩茎枝含丰富的矿物元素、氨基酸和维生素, 可做蔬菜; 种子中蛋白质含量高、氨基酸组分齐全, 富含人体必需的亚油酸, 为新型保健食用油, 也是医药、保健品的优质原料. 北美海蓬子可种植在海滩盐碱地、盐沼地或轻质沙土地上, 对改善海滩的生态环境起着重要作用^[1].

收稿日期: 2006-07-05 修回日期: 2006-10-31

基金项目: 江苏省教育厅自然科学基金 (05KJD180118)、南京晓庄学院重点学科 (2005NXY01) 资助项目.

作者简介: 华 春 (1963—), 女, 教授, 主要从事植物生理学的教学与研究. E-mail: hc3501988@163.com

盐生植物最大的特点是对盐渍生境有较强的适应能力,能够在盐渍生境中正常生长,并完成生活史.关于盐度对非盐生植物种子萌发的效应, Ayers^[2]早在 1952 年,就发现盐胁迫可以抑制大麦和小麦种子的萌发,随后 Kumar^[3]又对抑制机理做了进一步研究.盐胁迫抑制很多盐生植物种子萌发;赤霉素 (GA_3)能促进种子萌发,而在盐胁迫下外源 GA_3 对北美海蓬子的作用如何,未见报道.为此,本文初步探讨了盐胁迫对北美海蓬子种子萌发、幼苗生长的抑制以及外源 GA_3 的缓解效应,旨在为北美海蓬子的引种栽培及其种子在盐胁迫条件下萌发及苗期生长机理提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料及处理

选用北美海蓬子 (*Salicornia bigelovii* Torr.) 为实验材料,种子由南京农业大学光合与逆境生理实验室提供.处理分为:分别以 50 100 150 200 250 300 350 400 mmol/L 的单盐 (NaCl) 溶液配成 10 $\mu\text{g/mL}$ 外源赤霉素 (GA_3) 的混合液.以相应单盐 (NaCl) 为对照.各处理及测定均设 3 次重复,实验数据以统计软件 SPSS11.0 处理.

将种子以 1% H_2O_2 消毒 1 h,在培养皿底部垫滤纸,加处理溶液至滤纸润湿,放入 100 颗海蓬子种子在人工气候箱中培养,温度为 25℃,每天光照 12 h 相对湿度 75%,光照强度 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2/\text{s})$.每日统计相关数据并补充蒸发水分,使实验中溶液浓度维持相对不变.

1.2 方法

(1) 萌发率第 6 天 (此后萌发率已不变) 统计发芽种子粒数计算.根长、茎长:幼苗生长至第 9 天时,随机挑出同一浓度中 10 棵幼苗,测量根长、茎长,求平均值.发芽指数 (G_i): $G_i = \sum G_t/Dt(G_t$ 在时间 t 日的发芽数, Dt 萌芽日数);活力指数 (V_i): $V_i = G \cdot S$ (S 幼苗的生长势,用根长表示).根系活力采用张志良^[4] α -萘胺法测定.

(2) 脯氨酸含量采用张殿忠^[5] 磺基水杨酸法测定.可溶性蛋白含量采用李琳等^[6] 方法测定.

(3) 超氧化物歧化酶 (SOD) 采用南京建成生物工程公司 SOD 试剂盒测定, SOD 抑制率达 50% 为 1 个亚硝酸盐单位,以 Nu/g 表示.过氧化物酶 (POD) 按李瑞智^[7] 愈创木酚法测定,以 $\Delta\text{OD}_{470}/(\text{mg}/\text{min})$ 表示.过氧化氢酶 (CAT) 参照李合生^[8] 法测定.丙二醛 (MDA) 含量参照 Heath^[9] 的硫代巴比妥酸 (TBA) 比色法测定.超氧阴离子 (O_2^-) 产生速率参照王爱国^[10] 等方法测定.

2 结果与分析

2.1 种子发芽率

从图 1 可以看出,单盐处理下发芽率与盐浓度成负相关 ($r = -0.95$),施加 GA_3 后各浓度之间发芽率差异减小.与单盐胁迫对照,施加 GA_3 后北美海蓬子种子发芽率较高,说明外源赤霉素可以缓解盐胁迫,提高种子发芽率,这种作用在高盐浓度 (350 mmol/L 以上) 区域表现尤为明显.

2.2 种子发芽指数

发芽率只显示种子中能萌发的种子数目,而不能反映种子萌发的速度和整齐度,发芽指数则包含了对萌发速度和整齐度等信息.从图 2 可以看出,北美海蓬子种子在外源 GA_3 处理下,发芽指数较对照要高 10 个百分点.意味着在外源赤霉素作用下,盐环境中的种子可以相对集中在一个很短的时间内萌芽,提高了萌芽的速度和整齐度,这在生产上具有重要意义.

2.3 种子活力指数

种子活力指数是衡量种子萌芽能力的一个重要指标.图 3 表明,北美海蓬子种子在外源 GA_3 条件下,其发芽指数平均是对照的 1.5 倍左右.对照随浓度增加种子活力指数下降,而施加 GA_3 后除 350 mmol/L、

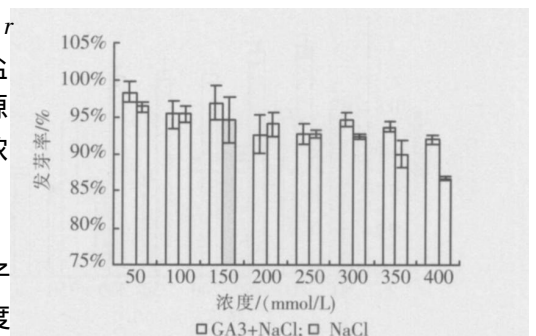


图 1 不同浓度处理液对北美海蓬子种子总发芽率影响
Fig.1 Effects of different density of treatment on seed sprouting rate of *Salicornia bigelovii* Torr

400mmol/L外差异较小,第 3 天种子活力都在 30% 左右,意味着外源 GA₃ 处理有利于提高在高盐浓度下北美海蓬子种子的萌芽能力.

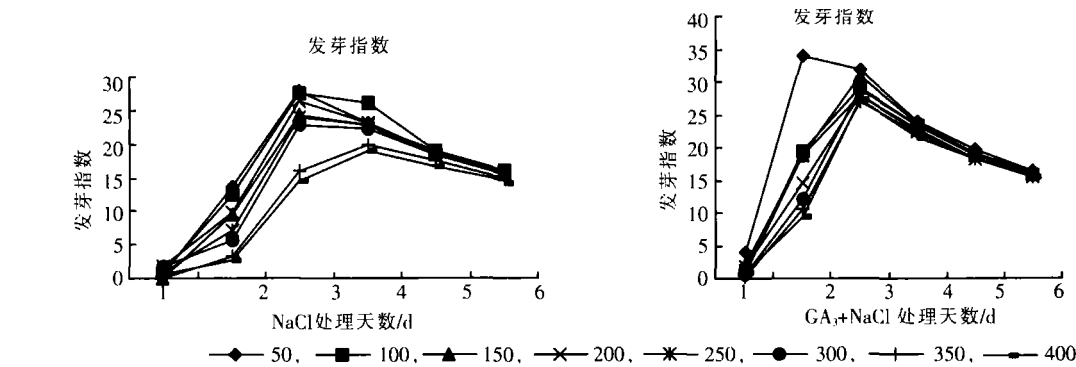


图 2 不同浓度处理液下北美海蓬子种子发芽指数影响

Fig.2 Effects on sprouts index of *Salicornia Bigelovii* Torr. with different concentration

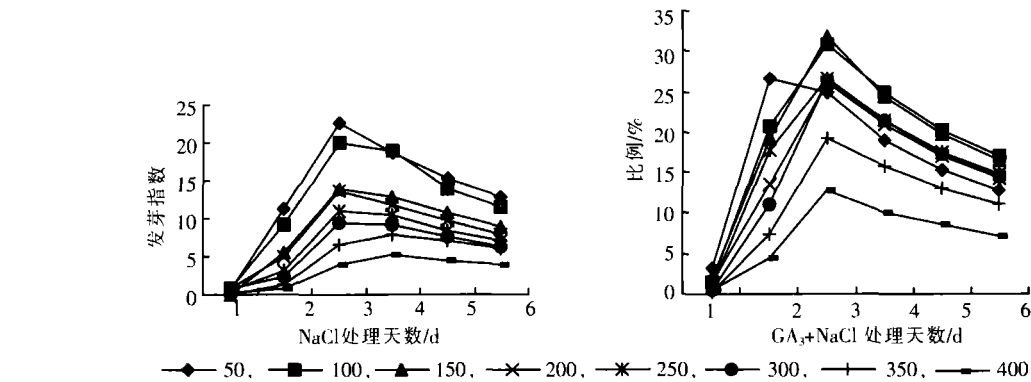


图 3 不同浓度处理液对北美海蓬子种子活力指数影响

Fig.3 Effects on vigor index of *Salicornia Bigelovii* Torr. with different concentration

2. 4 幼苗根长、茎长

由图 4 看出, 根长度随盐浓度增加而明显减小, 降幅较大, 达 50% 以上; 茎总体也呈减小趋势, 但各浓度之间降幅较小. 施加 GA₃ 后幼苗根茎总体趋势没有变化, 但根茎长度值显著增加 ($P < 0. 05$).

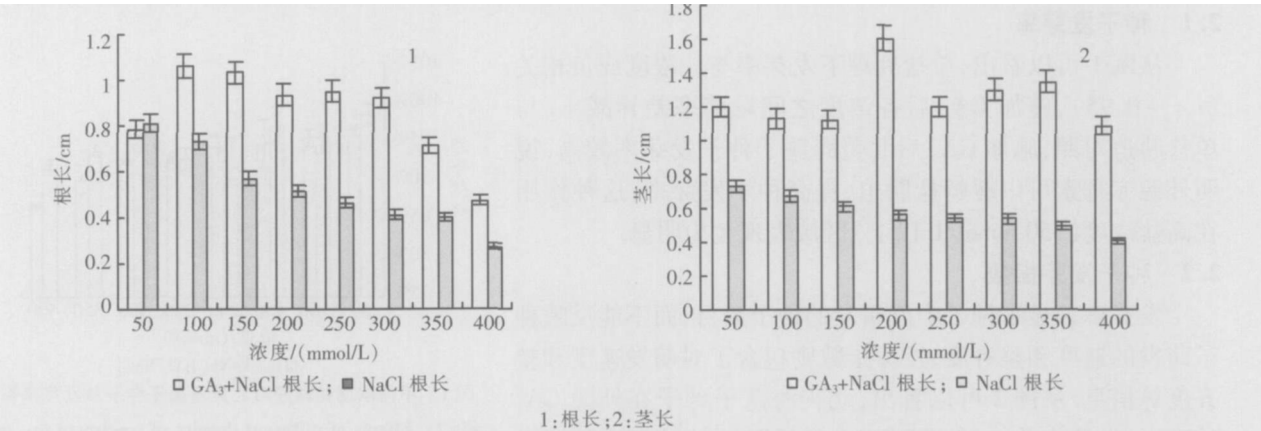


图 4 不同浓度处理液对北美海蓬子根长与茎长的影响

Fig.4 Effects on length of root or stem of *Salicornia Bigelovii* Torr. with different concentration

2. 5 幼苗根系活力

图 5 显示: 海蓬子幼苗根系活力随培养溶液浓度的上升而呈先升后降趋势. 其中对照最大值出现在 250mmol/L 处, 而外源 GA₃ 处理时最大值则出现在 300 mmol/L 处. 总体上外源 GA₃ 处理海蓬子根系活力值

大于对照, 有 2 倍之多. 说明外源赤霉素能显著增强北美海蓬子在盐胁迫下的根系生长能力 ($P < 0.05$).

2.6 幼苗 SOD、POD 及 CAT 活性

图 6 显示, 在对照组中, 北美海蓬子幼苗 SOD 活性呈先升后降趋势, 且有较大活性, 都在 100 个单位以上, 其最大值出现在 250 mmol/L 处; 而在外源 GA_3 作用下呈一直上升态势, 但上升幅度较小. 植物体内的 SOD 酶是一种诱导酶, 其活性在一定范围内随胁迫程度的加剧而上升, 实验显示高盐环境对北美海蓬子的生长是不利的. 在外源 GA_3 作用下 SOD 活性较单盐处理要小, 推测可能外源 GA_3 可以缓解北美海蓬子所受胁迫程度.

据图 7 可见, 单盐处理下幼苗 POD 活性呈先略微上升, 然后下降趋势; 但处理与对照活力大小相差较大, 处理幼苗 POD 活性总体低于对照一半之下, 且两者 POD 活性最大值出现位置也不相同: 对照出现在 300 mmol/L 处, 而外源 GA_3 作用下 POD 活性最大值则出现在 350 mmol/L 处. 意味着北美海蓬子幼苗在两种生长条件下所受胁迫程度是不同的.

由图 8 看出, 单盐处理时幼苗 CAT 活性随浓度变化呈先升后降趋势, 其最大值出现在 300 mmol/L 处; 施加 GA_3 处理下, 幼苗 CAT 活性随浓度的增加一直增大, 但升幅较小. 与对照相比, 外源 GA_3 作用下北美海蓬子幼苗 CAT 的活性低于单盐作用下北美海蓬子幼苗 CAT 活性, 但在浓度为 150 mmol/L 以下时差异不明显.

2.7 幼苗 O_2^- 产生速率及 MDA 含量

植物在代谢过程中可以产生各种活性氧, O_2^- 是其中

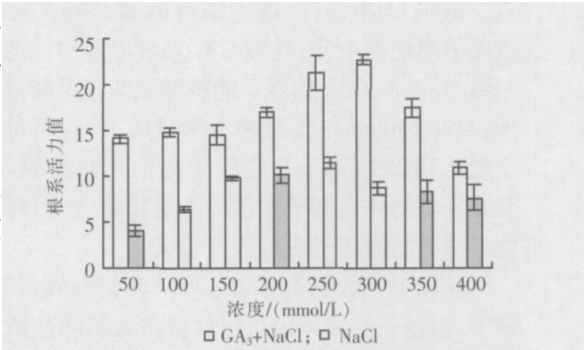


图 5 不同浓度处理液对北美海蓬子根活力影响

Fig.5 Effects on vitality of root system with different concentrations in seedling of *Salicornia Bigelovii* Torr

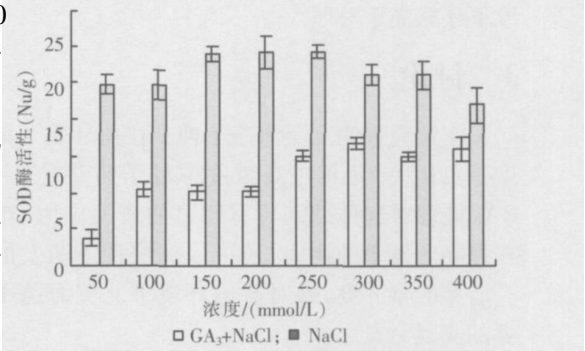


图 6 不同浓度处理液下北美海蓬子幼苗内 SOD 活性影响

Fig.6 Effects of different concentrations on SOD activity in seedling of *Salicornia Bigelovii* Torr

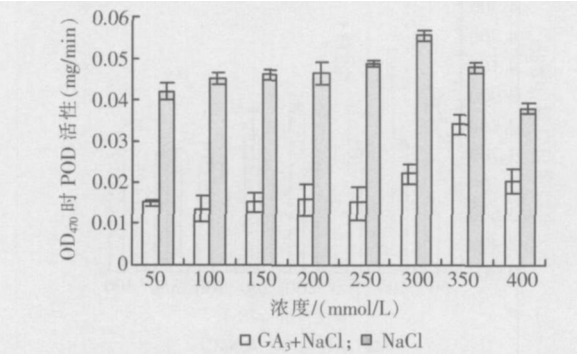


图 7 不同浓度处理液对北美海蓬子幼苗 POD 活性影响

Fig.7 Effects of different density of treatment on POD activity in seedling of *Salicornia Bigelovii* Torr

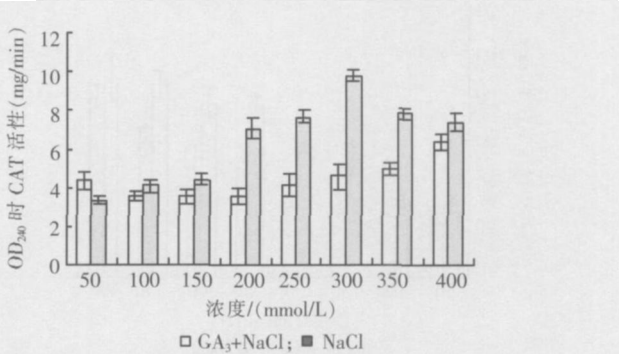


图 8 不同浓度处理液下北美海蓬子叶片 CAT 的活性影响

Fig.8 Effects of different concentrations on CAT activity in seedling of *Salicornia Bigelovii* Torr

一种. 其对植物体内的各种膜结构有着强烈的破坏作用, 当其产生速率超过其被清除速率的时候就会对植物造成严重后果. 从图 9 可见, 北美海蓬子在两种生长条件下, O_2^- 产生速率变化趋势相同: O_2^- 产生速率与浓度成正相关 (GA_3 : $r = 0.909$ 单盐: $r = 0.934$). 施加 GA_3 之后 O_2^- 产生速率明显降低, 与对照比较平均低 0.02 个单位.

丙二醛 (MDA) 是膜脂过氧化的产物之一, 而且 MDA 的积累也会对机体细胞产生毒害, 使膜结构和功能受到破坏. 从图 10 可以看出, 海蓬子幼苗体内 MDA 含量在两种条件下随浓度增加而呈上升趋势. 但对照 MDA 含量明显高于外源 GA_3 处理, 达 2~3 倍之多; 且变化态势也不相同: 对照为一直上升态势, 而外源 GA_3 处理下 MDA 含量在 250 mmol/L 以上才开始缓慢上升.

2.8 幼苗中脯氨酸含量及可溶蛋白含量

据图 11 可知:海蓬子幼苗内脯氨酸含量随环境盐浓度的增加而上升,外源 GA₃ 处理以及对照的变化趋势一致. 在外源 GA₃ 处理下幼苗脯氨酸含量要高于单盐处理,且在 150mmol/L 处就有明显的上升,而对照直到盐浓度达到 250mmol/L 之后才有较大幅度的升高. 脯氨酸作为植物体内调节渗透的主要物质之一,对于生长在盐环境下的海蓬子有着重要意义.

从图 12 看出,与单盐 (NaCl) 对照,在外源 GA₃ 处理下,海蓬子幼苗体内可溶性蛋白含量随盐浓度改变的变化很小;在单盐 (NaCl) 处理下北美海蓬子幼苗可溶性蛋白含量呈先上升而后下降趋势,其中在 150mmol/L 处值最大. 外源 GA₃ 处理下低盐浓度时幼苗体内可溶性蛋白含量低于对照,300% 以上含量相差减小,400% 浓度下还略高于对照.

3 讨论

本实验表明北美海蓬子种子在盐环境下萌发率与盐浓度呈负相关,尤其在低浓度下种子萌芽受抑制明显,外源 GA₃ 处理对这种抑制具有明显的缓解作用. 外源 GA₃ 处理在提高萌发率的同时,还可以加快种子萌发的速度以及提高萌芽的整齐度,这对盐碱环境下北美海蓬子育苗有着重要的实践意义.

外源 GA₃ 有利于海蓬子在盐碱环境中生长还表现在提高了其根系活力和促进根茎长增加. 与对照相比,外源 GA₃

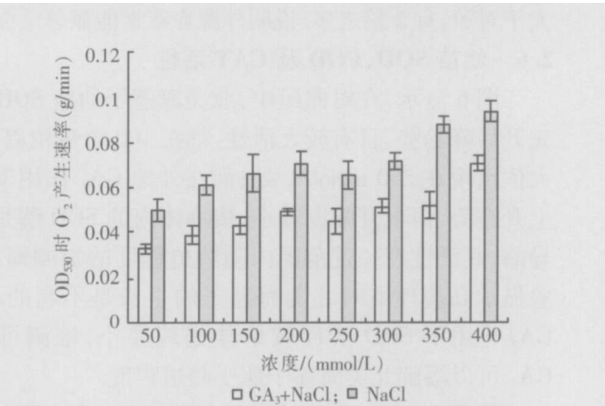


图 9 不同浓度处理液对北美海蓬子幼苗 O₂ 产生速率的影响
Fig.9 Effects on speed of production in O₂ with different concentrations in seedlings of *Salicornia Bigelovii* Torr

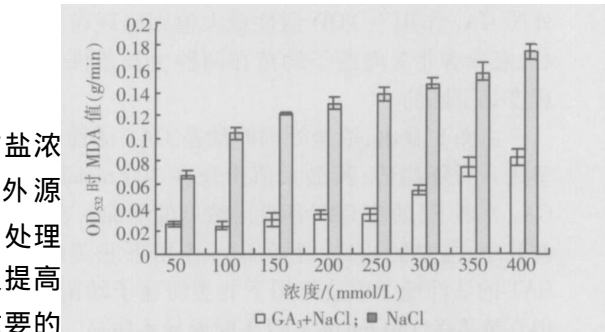


图 10 不同浓度处理液对北美海蓬子幼苗 MDA 影响
Fig.10 Effects of different concentrations on MDA content in seedling of *Salicornia Bigelovii* Torr

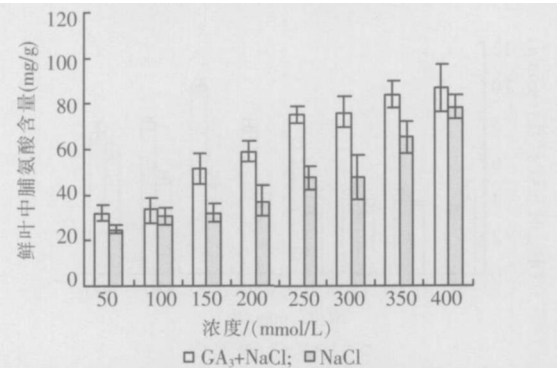


图 11 不同浓度处理液下北美海蓬子幼苗脯氨酸含量影响
Fig.11 Effects on proline content with different concentrations in seedling of *Salicornia Bigelovii* Torr

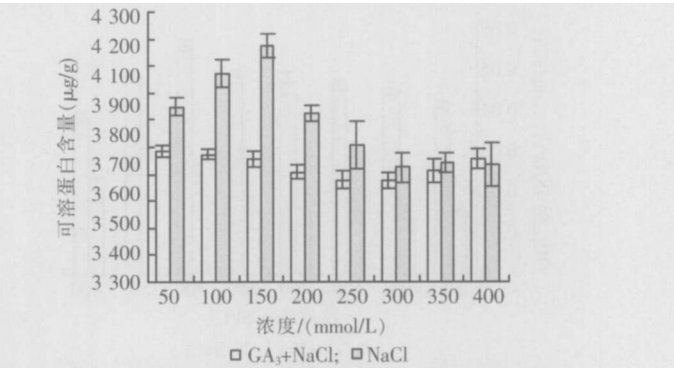


图 12 不同浓度处理液对北美海蓬子可溶蛋白含量影响
Fig.12 Effects on soluble protein content in seedling of *Salicornia Bigelovii* Torr. of America with different concentration

处理下的北美海蓬子根系活力提高了 2 倍,表明外源 GA₃ 能显著增强北美海蓬子在盐胁迫下的根系功能. 实验表明,北美海蓬子幼苗根长随盐浓度增加而显著变小,而在施加 GA₃ 之后这种盐对幼苗根茎的抑制作用明显减弱,根茎长显著增加. 这对促进幼苗生长相当有利.

植物在环境胁迫下,活性氧的产生会大大增加, O₂⁻ 就是对植物有着强烈毒害作用的其中的一种. 活性氧能够攻击质膜和细胞膜中的不饱和脂肪酸,引起膜的氧化,使得膜透性增大^[11]. 植物体内抗氧化酶可以清除活性氧,其中的 SOD 是一种诱导酶^[12], 它的活性变化在一定程度上意味着植株受胁迫程度的变化. 作为活性氧的有效清除剂,抗氧化酶活性水平也决定了膜脂过氧化反应的程度^[13]. MDA 是膜脂过氧

化产物, 能强烈地与细胞内各种成分发生反应, 因而引起酶和膜的损伤, 并导致膜结构和生理机能的破坏. 其含量高低是用来衡量植物在逆境胁迫下活性氧伤害程度大小的常用指标^[14]. 本实验表明, 在不同浓度盐胁迫条件下, 幼苗抗氧化酶活性都呈先升后降趋势, 意味着植株在一定范围内可以通过应激性的提高抗氧化酶活性来消除胁迫产生的毒害; 在胁迫超过植株的承受能力之后, 抗氧化酶活性也开始下降. 幼苗体内 O_2^- 产生速率和 MDA 含量也急剧上升, 幼苗生长受到严重影响. 同时, 北美海蓬子幼苗在施加 GA_3 处理条件下, 抗氧化酶活性低于对照, 其 O_2^- 产生速率与 MDA 含量较对照而言都维持在一个较低的水平之上, 意味着外源 GA_3 可以缓解北美海蓬子受到的盐胁迫, 结合外源 GA_3 处理下海蓬子体内有着较高的脯氨酸含量来看, 外源 GA_3 缓解海蓬子环境的盐胁迫主要是通过增加体内的渗透物质起作用, 其中主要是脯氨酸含量的变化, 可溶性蛋白只在高盐浓度下才对胁迫作出响应. 在植物受到逆境胁迫时, 游离脯氨酸能防止蛋白质脱水变性, 对植物的渗透调节起作用, 即使在含水量很低的细胞内, 脯氨酸溶液仍能提供足够的自由水, 从而维持生命活动的正常进行^[15]. 由此可见, 外源 GA_3 增加幼苗体内的渗透物质含量, 缓解了幼苗所受盐胁迫程度, 促使幼苗正常生长.

综合本实验看, 外源 GA_3 可以提高盐环境下北美海蓬子的萌芽率、萌芽速率和萌芽整齐度; 促进盐胁迫下北美海蓬子幼苗根茎的生长, 提高幼苗根系活力; 增加幼苗体内渗透物质含量, 减轻幼苗受到的盐胁迫, 有利于北美海蓬子幼苗在盐环境下的生长. 考虑到 GA_3 用量少, 价格相对经济, 因此在盐碱地生产上施用 GA_3 是可以产生较高经济价值和明显的生态价值的.

[参考文献]

- [1] 方良俊. 海蓬子种子萌发特性与贮存方法研究 [J]. 种子, 2005, 24(2): 33-36
- [2] Ayers A D. Seed germination is affected by soil moisture and salinity [J]. Agron Jour 1952 44: 82-84
- [3] Kumar A, Bahadur B, Shama B K. Influence of salts on the germination and seedling growth of *Hordeum vulgare* L [J]. Annals Arid Zone 1988, 27: 65-66
- [4] 张志良. 植物生理学实验指导 [M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 1990: 154-157.
- [5] 张殿忠. 测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法 [J]. 植物生理学通讯, 1990, 26(4): 62-65
- [6] 李琳, 焦新之. 应用蛋白染色剂考马斯蓝 G-250 测定蛋白质的方法 [J]. 植物生理学通讯, 1980, 16(6): 52-55
- [7] 李瑞智. SO_2 对作物叶片过氧化物酶的影响 [J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 1984(3): 114-116
- [8] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 164-169.
- [9] Heath R L, Parke L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation [J]. Arch Biochem 1968, 75(1): 189-198
- [10] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧自由基与羟胺反应的定量关系 [J]. 植物生理学通讯, 1990, 26(6): 55-57
- [11] Ouariti Boussama N, Z arrouk M, Cherif A, et al. Cadmium and copper-induced changes in tomato membrane lipids [J]. Phytochemistry 1997, 45(6): 1343-1350.
- [12] 余叔文, 汤章城. 植物生理与分子生物学 [M]. 2版. 北京: 科学出版社, 2001.
- [13] Kanazawa S, Sano S, Koshiba T, et al. Changes in antioxidative in cucumber cotyledons during natural senescence comparison with those during dark-induced senescences [J]. Plant Physiol 2000, 109(2): 211-216
- [14] 沈文飏, 叶茂炳, 徐郎莱, 等. 小麦旗叶自然衰老过程中清除活性氧能力的变化 [J]. 植物学报, 1997, 39(7): 634-647.
- [15] 张宪政, 陈凤玉, 王荣富. 植物生理学实验技术 [M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1994

[责任编辑: 孙德泉]