

杨永恒, 黄苏珍. NaCl 胁迫下甜菊不同耐盐性单株的生长及生理响应[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(8): 87-90.

NaCl 胁迫下甜菊不同耐盐性单株的生长及生理响应

杨永恒, 黄苏珍

(江苏省中国科学院植物研究所/南京中山植物园, 江苏南京 210014)

摘要:以敏盐甜菊单株 E143 和耐盐甜菊单株 G255 为试验材料, 采用 NaCl 溶液培养, 对 2 种单株在不同浓度 NaCl 溶液胁迫下的生长、生理变化及 Na^+ 、 K^+ 含量进行了研究。结果表明, 在不同 NaCl 浓度胁迫下耐盐单株 G255 的株高、根长的增长以及脯氨酸含量均大于敏盐单株 E143, 而 E143 的根冠比大于 G255, 但二者的含水量和叶绿素含量差异不显著; 不同耐盐单株的 Na^+ 均主要分布在叶片中。随着 NaCl 浓度升高, E143 植株根、叶中 K^+ 含量升高; G255 植株 K^+ 在对照中主要分布于叶, 在 30、60、90 mmol/L NaCl 胁迫时主要分布于根, 当处理浓度升高到 120 mmol/L 时则主要分布于叶。综合结果表明, 耐盐甜菊可能主要通过脯氨酸及离子选择性吸收来调节植物抗盐性。

关键词:甜菊; NaCl; 盐胁迫; 生理响应

中图分类号: Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)08-0087-04

甜菊 (*Stevia rebaudiana* Bertoni) 为原产巴拉圭和巴西交界的阿曼拜山脉的菊科多年生草本, 其茎叶中所含的甜味成分甜菊苷 (stevioside)、莱鲍迪苷 A (rebaudioside A) 等具有高甜度、低热量特性^[1]。已有研究表明甜菊糖苷具有抗高血压^[2-3]、降血糖^[4-6]、减肥^[7]和抗氧化^[8]等多重功效, 特别适宜肥胖症、糖尿病、高血压、动脉硬化、龋齿病等人群食用; 另外其非发酵可明显延长产品保质期的特性已广泛用于食品饮料行业, 也是取代甜蜜素、阿斯巴甜等^[9-10]人工合成高甜度甜味剂的最佳选择。因此, 甜菊已成为目前最受关注的新兴保健型糖源。甜菊糖国际市场需求的增加以及甜菊产业的不断扩大和发展, 势必会带来甜菊种植耕地扩大与现有主要农

作物耕地竞争的压力, 加之随着人口增长和经济发展, 可耕地土地资源受到一定程度的占用、破坏以及逐年增加的土地盐渍化等^[11], 都不同程度地限制了包括甜菊在内的新经济作物的进一步扩大种植和发展。通过种质改良提高植物耐盐性是利用盐碱地发展甜菊产业的重要措施之一。目前, 国内外与甜菊相关的研究主要集中在引种栽培、遗传育种提高糖苷含量、繁殖技术、糖苷萃取以及甜菊苷的生物活性、药理功能等方面, 关于甜菊耐盐性研究的报道较少。本研究拟从耐盐亲本与较耐盐的高莱鲍迪苷 A 亲本杂交后代中筛选出耐盐性差异大的 F_1 代单株 E143 和 G255 为试验材料, 采用 NaCl 溶液培养, 从盐胁迫对植物生长、渗透调节、离子区隔化和膜系统完整性等甜菊耐盐生理响应机理进行探索, 皆在为进一步进行甜菊耐盐种质创新培育研究与利用提供理论依据。

收稿日期: 2013-01-24

基金项目: 江苏省科技支撑计划 (编号: BE2009322); 江苏省南京市科技成果推广项目 (编号: 200901001)。

作者简介: 杨永恒 (1985—), 女, 陕西洋县人, 博士研究生, 主要从事植物遗传育种研究。E-mail: yyh8576@163.com。

通信作者: 黄苏珍, 研究员, 主要从事植物逆境种质资源评价研究。

E-mail: hsz1959@163.com。

参考文献:

- [1] 侯玉虹, 陈传永, 郭志强, 等. 春玉米不同产量群体叶面积指数动态特征与生态因子资源量的分配特点[J]. 应用生态学报, 2009, 20(1): 135-142.
- [2] 李向岭, 李从锋, 侯玉虹, 等. 不同播期夏玉米产量性能动态指标及其生态效应[J]. 中国农业科学, 2012, 45(6): 1074-1083.
- [3] 李潮海, 苏新宏, 谢瑞芝, 等. 超高产栽培条件下夏玉米产量与气候生态条件关系研究[J]. 中国农业科学, 2001, 34(3): 311-316.
- [4] Brassard J P, Singh B. Effects of climate change and CO_2 increase on potential agricultural production in southern Québec, Canada[J]. Climate Research, 2007, 34: 105-117.
- [5] 胡田田, 康绍忠, 原丽娜, 等. 不同灌溉方式对玉米根毛生长发育的影响[J]. 应用生态学报, 2008, 19(6): 1289-1295.
- [6] Allison J C S, Daynard T B. Effect of change in time of flowering induced by altering photoperiod or temperature, on attributes related to

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料分别为敏盐甜菊单株 E143 和耐盐甜菊单株 G255 经扦插繁殖的幼苗。两单株为耐盐亲本与高莱鲍迪苷

- yield in maize[J]. Crop Science, 1979, 19(1): 1-14.
- [7] 李言照, 东先旺, 刘光亮, 等. 光温因子对玉米产量及产量构成因素值的影响[J]. 中国生态农业学报, 2002, 10(2): 86-89.
- [8] 朱英华. 不同播期对玉米品种生育进程和产量潜力的影响[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2003.
- [9] 郑洪建, 董树亭, 王空军, 等. 生态因素对玉米品种产量发育影响及调控的研究[J]. 作物学报, 2001, 27(6): 862-868.
- [10] 张旭东, 蔡焕杰, 付玉娟, 等. 黄土区夏玉米叶面积指数变化规律的研究[J]. 干旱地区农业研究, 2006, 24(2): 25-29.
- [11] 吕新. 生态因素对玉米生长发育影响及气候生态模型与评价系统建立的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2002.
- [12] 张安邦. 夏玉米主要农艺性状与产量之间的关系[J]. 玉米科学, 1993, 1(2): 30-33.
- [13] 张石宝, 李树云, 胡丽华, 等. 播种季节对玉米生长发育及干物质生产和分配的影响[J]. 云南植物研究, 2001, 23(2): 243-250.

A 的较耐盐亲本的杂交后代,经 NaCl 胁迫鉴定耐盐性差异较大^[12]。在沙培并浇灌 100 mmol/L NaCl 溶液条件下,E143 仅存活约 7 d,G255 则存活 28 d 以上,在水培筛选试验中 E143 不能在高于 100 mmol/L 的 NaCl 溶液中存活,而 G255 可耐受 250 mmol/L 的 NaCl 胁迫。

1.2 试验方法

分别挑选生长良好、大小一致的 E143 和 G255 扦插苗各 90 株,将 E143、G255 各 6 株为一组固定于同一块泡沫板上,置于周转箱上在 1/2 Knop 营养液中缓苗 7 d。设置 NaCl 溶液胁迫浓度分别为 0 (CK)、30、60、90、120 mmol/L,每处理 3 个重复,每 3 d 更换 1 次溶液。胁迫前用直尺分别测量各植株的株高和根长;胁迫后每天观察并记录生长状况,在胁迫处理后 7 d 将植株取出洗净根部,测量株高、根长,胁迫前后株高、根长的差值分别记为株高增长量、根长增长量。将地上部和地下部分开称鲜重,各重复随机取 3 株测定叶片脯氨酸含量、丙二醛含量和叶绿素含量;另取 3 株 105 ℃ 杀青 15 min,70 ℃ 烘至恒重后分别称地上、地下部分干重;取烘干的根、茎、叶测 Na^+ 、 K^+ 含量。

脯氨酸 (Pro) 含量采用酸性茚三酮显色法^[13]测定;丙二醛 (MDA) 含量采用硫代巴比妥酸 (TBA) 法^[14]测定;叶绿素含量采用 95% 乙醇浸提法^[15]测定; Na^+ 、 K^+ 含量测定采用 AAS 法^[16]。

采用 Excel 2007 和 SPSS 11.5 软件对试验数据进行统计分析,并进行相关性和差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫对不同耐盐性甜菊植株生长的影响

由图 1-A 可知,NaCl 胁迫培养 7 d 后,敏盐单株 E143

和耐盐单株 G255 的株高增长量均随 NaCl 浓度的升高而下降,说明 NaCl 胁迫明显抑制甜菊的生长;在各 NaCl 处理下 G255 的株高增长量均大于 E143,说明 G255 具有较强的生长势。

由图 1-B 可知,随着 NaCl 浓度的升高,G255 和 E143 根长增长量均逐渐减小,说明不同浓度 NaCl 胁迫均抑制甜菊根系的生长;E143 在 60 mmol/L NaCl 处理下根长增长量与对照差异显著,而植株 G255 在 90 mmol/L 胁迫浓度下根长增长量与对照差异显著,表明与 E143 相比,G255 可耐受相对更高的 NaCl 胁迫。各处理浓度下 G255 的根长增长量均大于 E143,这与株高增长量比较结果相似。

由图 1-C 可知,E143 和 G255 植株含水量均随着 NaCl 浓度的升高呈先增后减的趋势,E143 在 90 mmol/L 时含水量最高,G255 在 30 mmol/L 时含水量最高,说明 G255 对 NaCl 胁迫反应的响应能力比 E143 强。但在不同胁迫浓度下两单株的含水量均在 84% ~ 87% 的范围内,变化不大,且均在高浓度 NaCl 胁迫下出现了显著下降。

由图 1-D 可知,在 NaCl 浓度为 60 mmol/L 时,E143 的根冠比显著增大,之后随着胁迫浓度升高根冠比减小,但仍高于对照。根冠比的增大表现为地上部干物质量的减少和地下部干物质量的增加,E143 的根冠比显著增大可能与 E143 在 60、90、120 mmol/L 时株高增长量的显著下降有关。G255 在各浓度 NaCl 胁迫下的根冠比无显著差异,说明敏盐单株可能通过增加根冠比提高水分的吸收来应对渗透胁迫;而耐盐单株受 NaCl 胁迫的影响较小,其根冠比的变化也小。

2.2 NaCl 胁迫对不同耐盐性甜菊植株叶片脯氨酸、丙二醛、叶绿素含量的影响

由图 2-A 可知,随着 NaCl 浓度升高,两单株体内游离

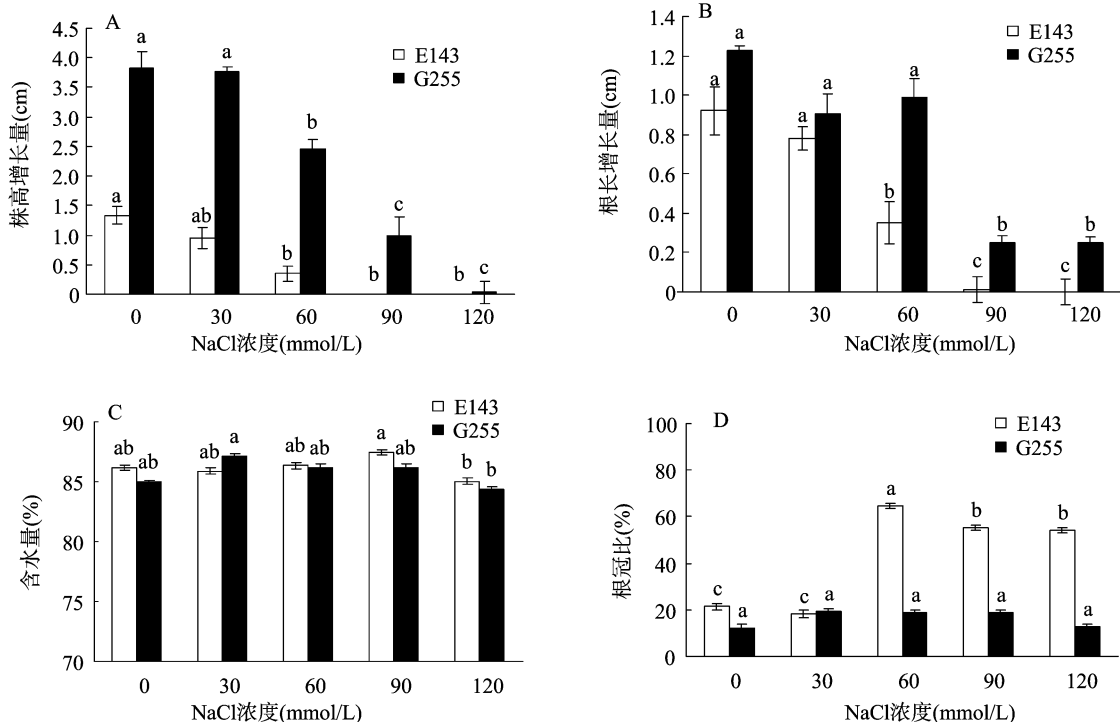


图1 不同NaCl浓度处理对不同耐盐植株株高 (A)、根长 (B)、含水量 (C) 及根冠比 (D) 的影响

脯氨酸含量均增加;从二者的对照看,耐盐单株 G255 体内的基础脯氨酸含量明显高于敏盐单株 E143,在相对低 NaCl 浓度胁迫下增加不显著,而在高浓度 NaCl (90 ~ 120 mmol/L) 时脯氨酸含量出现显著升高,约为对照的 2 倍,是相同胁迫条件下 E143 的 4 ~ 5 倍,表明 G255 尤其在高胁迫浓度下通过脯氨酸调节渗透压的能力强于 E143,因此推测较强的脯氨酸渗透调节作用可能是 G255 耐盐性较强的原因之一。

图 2 - B 可见,在 NaCl 不同浓度胁迫下 E143 体内丙二醛含量维持在较高水平,而 G255 出现了在 30 mmol/L 时丙二醛

含量低于对照的现象,之后随着 NaCl 浓度升高,丙二醛含量升高至与对照相当的水平,表明相同 NaCl 浓度胁迫下不同盐敏感性植株诱导体内保护系统降低膜伤害能力的显著差异。

在逆境条件下,植物体内水分亏缺、矿质营养不良、膜系统结构破坏、有害代谢产物积累等均可能直接或间接地影响叶绿素的合成^[17]。叶绿素含量在一定程度上反映了植物光合作用强度,并影响植物的正常生长。由图 2 - C 可见,在不同 NaCl 浓度的胁迫下 2 个单株的叶绿素含量均没有显著变化。

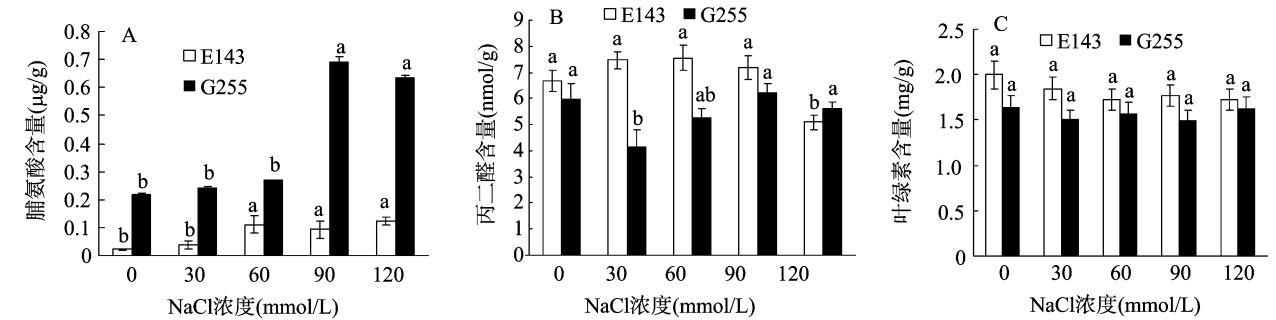


图2 NaCl浓度胁迫下不同耐盐性植株叶片脯氨酸(A)、丙二醛(B)及叶绿素(C)含量变化

2.3 NaCl 胁迫对不同耐盐性甜菊植株根、茎、叶中 Na⁺、K⁺ 含量的影响

在不同 NaCl 浓度胁迫下敏盐单株 E143 和耐盐单株 G255 根茎叶中 Na⁺、K⁺ 含量变化见表 1。两单株根中的 Na⁺ 含量随胁迫浓度升高均没有显著变化;E143 茎中 Na⁺ 含量总体上随胁迫浓度升高而增加,120 mmol/L 时约为对照的 5 倍;E143 叶中 Na⁺ 含量在 30 mmol/L 时升到 2.704mg/g,之后下降但仍高于对照水平,可能是因为 E143 在高浓度胁迫下将 Na⁺ 储存在茎中避免叶片受到伤害。G255 茎和叶中的 Na⁺ 含量在低浓度下与对照差异不显著,当胁迫浓度升高至 120 mmol/L 时,茎、叶中的 Na⁺ 含量显著增加,且茎中 Na⁺ 含量约为对照的 2 倍,大于叶中的增加幅度,可见 G255 同样将

Na⁺ 储存在了茎中以保护叶片。
单株 E143 在 NaCl 胁迫下根中 K⁺ 含量高于对照,90 mmol/L 时根中 K⁺ 含量达最高;茎中 K⁺ 含量在 30 mmol/L 时最高,随胁迫浓度增加 K⁺ 含量显著下降,但在 120 mmol/L 时又有所增加;E143 叶中 K⁺ 含量在不同 NaCl 胁迫下无显著差异。在 NaCl 胁迫下 G255 根中 K⁺ 含量均高于对照;其茎和叶中 K⁺ 含量在 120 mmol/L NaCl 胁迫时较高,除在 30 mmol/L NaCl 胁迫下叶中 K⁺ 含量低于对照外,低浓度胁迫下茎中 K⁺ 含量与对照间无显著差异。可见两单株均是通过选择性吸收 K⁺ 维持细胞渗透性和水分含量以相对降低叶片对 Na⁺ 的吸收及 Na⁺ 含量。

表 1 NaCl 胁迫下敏盐植株和耐盐植株不同器官中 Na⁺、K⁺ 离子的含量变化

离子	单株	器官	离子的含量(mg/g)				
			0 mmol/L	30 mmol/L	60 mmol/L	90 mmol/L	120 mmol/L
Na ⁺	E143	根	0.144 ± 0.03a	0.291 ± 0.10a	0.180 ± 0.03a	0.404 ± 0.07a	0.302 ± 0.05a
		茎	0.434 ± 0.12c	0.775 ± 0.07b	0.925 ± 0.08b	0.751 ± 0.04b	2.088 ± 0.02a
		叶	1.164 ± 0.02b	2.704 ± 0.05a	1.479 ± 0.03b	1.540 ± 0.08b	1.422 ± 0.06b
	G255	根	0.203 ± 0.12a	0.123 ± 0.03a	0.163 ± 0.03a	0.163 ± 0.08a	0.163 ± 0.05a
		茎	0.624 ± 0.05b	0.731 ± 0.09b	0.643 ± 0.06b	0.773 ± 0.10b	1.120 ± 0.01a
		叶	1.161 ± 0.01b	0.900 ± 0.07b	1.101 ± 0.11b	1.275 ± 0.03b	1.671 ± 0.08a
K ⁺	E143	根	0.860 ± 0.01c	1.920 ± 0.04b	1.011 ± 0.01c	2.977 ± 0.01a	1.673 ± 0.00b
		茎	2.689 ± 0.02b	6.561 ± 0.00a	0.757 ± 0.06c	0.586 ± 0.05c	1.573 ± 0.04b
		叶	0.923 ± 0.05a	1.796 ± 0.12a	1.405 ± 0.05a	1.087 ± 0.03a	1.066 ± 0.03a
	G255	根	0.618 ± 0.02c	0.739 ± 0.10b	1.248 ± 0.05a	1.200 ± 0.02a	0.902 ± 0.04a
		茎	0.539 ± 0.07b	0.596 ± 0.11b	0.442 ± 0.06b	0.626 ± 0.07b	0.884 ± 0.07a
		叶	0.829 ± 0.06b	0.596 ± 0.04c	0.967 ± 0.03b	0.973 ± 0.01b	1.263 ± 0.10a

注:同行数据后不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。

3 讨论

植物的耐盐性受多基因控制^[18],盐胁迫下植物的生长受多种因素的影响,是一个极为复杂的生理生化响应过程。本

试验中敏盐单株 E143 在胁迫下根冠比显著增加,表明该植株通过抑制地上部的生长减少蒸腾,并促进根系的生长以吸收水分。

脯氨酸是植物在盐胁迫下的主要渗透调节物质之一,不

仅是生物大分子的保护剂和羟基的清除剂,还是植物从胁迫条件恢复正常过程中迅速、有效的氮源、碳源和还原剂,脯氨酸含量的增加是植物对逆境的一种适应性反应,与耐盐性呈正相关^[19-21]。G255 的基础脯氨酸含量明显高于 E143,可以认为其渗透调节能力较强,因此植株生长受影响程度较小。丙二醛由脂质过氧化反应产生,丙二醛的积累会引起蛋白质、核酸等生命大分子的交联聚合,具有细胞毒性^[22]。在正常情况下,保护酶系统的 SOD、POD 等能清除自由基,维持体内活性氧的动态平衡,而逆境胁迫会打破这种平衡使丙二醛积累^[23],因此推测 G255 在低 NaCl 浓度胁迫下有较低丙二醛含量是保护酶系统及时清除自由基的结果。

在盐渍条件下,许多植物具有选择性吸收土壤溶液中某些低浓度必需元素而更少吸收非必需元素的特性^[24]。以 NaCl 和 Na₂SO₄ 为主的盐渍化土壤中 K⁺ 一般都含量很低,选择性吸收 K⁺ 既能保持细胞质有较低渗透势以抵消液泡渗透势降低,又能缓解盐胁迫下细胞内 K⁺ 亏缺而引发的生长抑制。对甜菊两单株的 K⁺、Na⁺ 含量进行分析发现,E143 在对照和 30 mmol/L 处理下茎中的 K⁺ 含量都很高,根和叶中含量较低,在较高处理浓度下,根中 K⁺ 含量高于对照,茎中的 K⁺ 含量降低,叶中则保持与对照相当的水平。而 G255 在 NaCl 胁迫下根中 K⁺ 含量均高于对照,除在 30 mmol/L 处理下叶中 K⁺ 含量较低外,茎和叶中的 K⁺ 含量在低浓度胁迫时与对照无显著差异,只在 120 mmol/L 时有所升高。两单株在 0 ~ 90 mmol/L 时 Na⁺ 含量均为叶 > 茎 > 根,胁迫浓度为 120 mmol/L 时,茎中 Na⁺ 含量显著升高;在胁迫条件下 K⁺ 主要分布于根和叶,表明甜菊有通过离子区隔化降低离子毒害的能力。

因此,甜菊能通过抑制地上部生长减小蒸腾;通过促进根系生长增加水分吸收;通过脯氨酸等物质进行渗透调节以及通过选择性吸收和离子区隔化减小离子毒害^[18]来应对 NaCl 胁迫。从对 NaCl 胁迫的生理响应上看这 2 种材料的耐盐机制并没有差异,但其耐盐性确实存在差异,这提示从群体中筛选耐盐的优良单株培育耐盐甜菊是可能的。

参考文献:

- [1] Goyal S K, Samsher, Goyal R K. *Stevia (Stevia rebaudiana)* a bio-sweetener; a review [J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2010, 61 (1): 1 - 10.
- [2] Gregersen S, Jeppesen P B, Holst J J, et al. Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects [J]. *Metabolism - clinical and Experimental*, 2004, 53 (1): 73 - 76.
- [3] Ferri L A, Alves - Do - Prado W, Yamada S S, et al. Investigation of the antihypertensive effect of oral crude stevioside in patients with mild essential hypertension [J]. *Phytotherapy Research*, 2006, 20 (9): 732 - 736.
- [4] Kujur R S, Singh V, Ram M, et al. Antidiabetic activity and phytochemical screening of crude extract of *Stevia rebaudiana* in alloxan - induced diabetic rats [J]. *Pharmacognosy Research*, 2010, 2 (4): 258 - 263.
- [5] Saravanan R, Vengatash babu K, Ramachandran V. Effect of rebaudioside A, a diterpenoid on glucose homeostasis in STZ - induced diabetic rats [J]. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 2012, 68 (3): 421 - 431.
- [6] Chen J, Jeppesen P B, Abudula R, et al. Stevioside does not cause increased basal insulin secretion or beta - cell desensitization as does the sulphonylurea, glibenclamide; studies *in vitro* [J]. *Life Sciences*, 2005, 78 (15): 1748 - 1753.
- [7] Park J E, Cha Y S. *Stevia rebaudiana* Berton extract supplementation improves lipid and carnitine profiles in C57BL/6J mice fed a high - fat diet [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2010, 90 (7): 1099 - 1105.
- [8] Tavarini S, Angelini L G. *Stevia rebaudiana* Berton as a source of bioactive compounds; the effect of harvest time, experimental site and crop age on steviol glycoside content and antioxidant properties [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2012, 93 (9): 2121 - 2129.
- [9] 杨远志, 李发财, 琚争艳, 等. 甜菊糖的应用现状及发展前景 [J]. *发酵科技通讯*, 2011, 40 (1): 40 - 44.
- [10] 李晓瑜. 甜菊糖苷的安全性研究进展 [J]. *中国食品添加剂*, 2003 (2): 5 - 11.
- [11] 杨劲松. 中国盐渍土研究的发展历程与展望 [J]. *土壤学报*, 2008, 45 (5): 837 - 845.
- [12] 杨永恒, 黄苏珍, 佟海英. 甜菊不同杂交组合结实率及其 F₁ 代萌发和生长及对 NaCl 耐性的比较 [J]. *植物资源与环境学报*, 2012, 21 (2): 73 - 78.
- [13] 张宪政. 作物生理研究法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1992: 206 - 207.
- [14] 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: 260 - 261.
- [15] 郝再彬, 苍晶晶, 徐 仲, 等. 植物生理实验技术 [M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2004: 46 - 49.
- [16] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2005: 50 - 61.
- [17] Stroganov B P. Structure and function of plant cells in saline habitats [M]. New York: Halsted Press, 1973: 57 - 58.
- [18] Hasegawa M, Bressan R, Pardo J M. The dawn of plant salt tolerance genetics [J]. *Trends in Plant Science*, 2000, 5 (8): 317 - 319.
- [19] 曾洪学, 王 俊. 盐害生理与植物抗盐性 [J]. *生物学通报*, 2005, 40 (9): 4 - 6.
- [20] 李 彦, 张英鹏, 孙 明, 等. 盐分胁迫对植物的影响及植物耐盐机理研究进展 [J]. *中国农学通报*, 2008, 24 (1): 258 - 265.
- [21] 孟长军, 邹志荣. 外源 AIA 对樱桃番茄幼苗盐伤害的缓解效应 [J]. *江苏农业学报*, 2011, 27 (2): 378 - 381.
- [22] 赵晨阳, 郑荣梁. DNA 氧化性损伤与端粒缩短 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2000, 27 (4): 351 - 353.
- [23] 张兆英, 于秀俊. 植物抗盐性评价生理指标的分析 [J]. *沧州师范学院专科学校学报*, 2006, 22 (4): 51 - 53.
- [24] 王慧英, 孙建设, 张建光. NaCl 胁迫对苹果砧木 K⁺ 和 Na⁺ 吸收的影响及其与耐盐性的关系 [J]. *河北农业大学学报*, 2002 (增刊): 104 - 107.