

杜浩,张彬,黄萍,等. 4 个甜高粱品种(系)发芽期耐盐性比较分析[J]. 江苏农业科学,2018,46(12):63-66.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.12.014

4 个甜高粱品种(系)发芽期耐盐性比较分析

杜浩¹, 张彬¹, 黄萍^{1,3}, 杜道林^{1,3}, 庄义庆²

(1. 江苏大学环境与安全工程学院, 江苏镇江 212013; 2. 江苏丘陵地区镇江农业科学研究所, 江苏句容 212013;

3. 江苏大学农业工程研究院, 江苏镇江 212013)

摘要:为筛选出耐盐能力较强的甜高粱品种(系),在不同盐浓度(NaCl)胁迫下,对 4 个不同甜高粱品种(系)的生理指标进行检测。结果表明,随着盐浓度升高,4 个甜高粱品种(系)的萌发率、根长、株高及干质量均不同程度地减少,其中牛魔王(NMW)较其他品种对盐胁迫最不敏感,大力王(DLW)次之。当盐胁迫浓度为 80 mmol/L 时,4 个甜高粱品种的过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性升高,丙二醛(MDA)和脯氨酸含量也相应增加;当盐胁迫浓度为 160 mmol/L 时,海牛(HN)和帕卡(PK)未能存活,NMW 和 DLW 能存活,保护酶系统受到破坏,但脯氨酸含量的升高有利于活性氧的去除和保护植物的蛋白质和细胞结构,使其耐盐性提高。通过对多种指标的综合比较得出,4 个甜高粱品种(系)的耐盐性依次为 NMW > DLW > PK > HN。

关键词:甜高粱;耐盐性;发芽率;抗氧化系统

中图分类号: S514.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)12-0063-04

甜高粱[*Sorghum bicolor* (L.) Moench]起源于非洲,是一种 C4 植物,由于生长速度快、产量高、植物茎干含糖量高且具有较强的耐盐碱、抗旱、耐高温等特点,适宜在盐碱滩涂及干旱等边际土壤大规模种植,因此也被誉为“作物中的骆驼”。我国盐碱地面积约为 9 913 万 hm^2 ,且盐碱化和次生盐碱地面积逐年增加^[1]。而江苏省沿海滩涂总面积居全国首位,并且以每年 1 333 hm^2 的速度增长^[2]。研究甜高粱的耐盐性,充分利用这些边际性土地发展甜高粱生物质能源,可以有效缓解我国耕地面积紧缺和粮食安全压力,也符合“不与人争粮,不与粮争地”的政策。因此,筛选耐盐耐碱甜高粱品种(系)具有十分重要的意义。

本试验以不同浓度的盐胁迫(NaCl)处理对种子萌发和幼苗生长的影响程度为指标,对 4 个甜高粱品种(系)发芽期耐盐性进行初步的鉴定与评价,旨在为甜高粱耐盐性研究和品种筛选提供更多理论依据,进而为江苏沿海滩涂甜高粱品种的选择提供指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

用于研究的 4 个甜高粱品种(系)分别为大力王(DLW)、牛魔王(NMW)、海牛(HN)和帕卡(PK),均购自郑州华丰草

业有限公司。选取籽粒饱满、大小均一的种子备用。NaCl 试剂由国药集团化学试剂有限公司生产,MS 培养基购自上海宇涵生物科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 种子预处理 选取颗粒饱满、大小均一的 DLW、NMW、HN 和 PK 种子,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 通风放置 7 d 后统一置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。用 6% NaClO 进行表面消毒 20 min,然后用无菌水清洗 3~5 遍,在无菌操作台中,接种于含有不同浓度 NaCl 的 MS 固体培养基上。

1.2.2 盐胁迫处理 配制 1 mol/L NaCl 母液,在 MS 固体培养基中分别添加至 NaCl 终浓度为 0、80、160、240 mmol/L,121 $^{\circ}\text{C}$ 高温灭菌 20 min 后摇匀,待冷却至 50~60 $^{\circ}\text{C}$ 倒入 9 cm 培养皿中放置冷却凝固,然后将消毒处理后的种子接种到培养基上进行培养。每个培养皿接 10 粒种子,每个品种 4 个处理,每个处理 7 个重复,培养皿置于 25~28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温光照培养箱中培养,光照时间 14 h/d。

1.2.3 种子发芽指标的测定 种子发芽能力的检测参照 GB/T 3543.4—1995《农作物种子检验规程 发芽试验》,按以下公式计算萌发率:

$$\text{种子萌发率} = N_1 / N \times 100\%$$

式中: N_1 为全部正常发芽种子数,粒; N 为供试种子数,粒。种子发芽以胚根突破种皮为标准,发芽期间每天统计发芽数,共计 8 d。

1.2.4 形态指标的测定 发芽试验结束后 15 d 测定幼苗的根长、株高以及干质量。

平均根长和株高:种子发芽 15 d 后,将幼苗从培养皿中取出洗净,用吸水纸吸去水分,进行拍照,以标尺作为对照。从每个处理的 7 个重复中各取 20 株幼苗,用 Image J 软件测出根长和株高,取平均值。

干质量:种子发芽后 15 d,将幼苗从培养皿中取出,在 110 $^{\circ}\text{C}$ 杀青 2 h,然后放入 65 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱内烘至恒质量,待冷却至

收稿日期:2017-01-02

基金项目:江苏省科技支撑计划(编号:BE2012419、BE2011369);国家自然科学基金(编号:31200316、31570414);中国博士后科学基金(编号:2012M520999);江苏大学高级人才基金(编号:11JDGI50)。

作者简介:杜浩(1990—),男,江苏邳州人,硕士研究生,主要从事植物生物技术研究。E-mail:duhaont@163.com。

通信作者:黄萍,博士,副教授,主要从事植物生物技术等研究, E-mail:huangjiehp@163.com;庄义庆,博士,研究员,主要从事农作物主要病虫害的综合防治等研究, E-mail:zjnkskjc@163.com。

室温后用 FA1604 电子天平称取植株的干质量,并记录。

1.3 生化指标的测定

1.3.1 丙二醛(MDA)含量的测定 采用硫代巴比妥酸法^[3]测定。取上清液在 Infinite M1000 PRO(TECAN)下分别测定 600、532、450 nm 下的吸光度。

1.3.2 脯氨酸含量的测定 参照酸性茚三酮法^[4]测定,并对过程稍作优化。

1.3.3 保护酶活性的测定 过氧化物酶(POD)活性的测定采用愈创木酚显色法^[5],用 Infinite M1000 PRO(TECAN)在 470 nm 波长下测量吸光度,以 1 min 内 $D_{470\text{ nm}}$ 变化 0.01 为 1 个酶活性单位。

过氧化氢酶(CAT)活性的测定采用紫外吸收法^[6],用 Infinite M1000 PRO(TECAN)在 240 nm 下测量吸光度,以 1 min 内 $D_{240\text{ nm}}$ 减少 0.1 为 1 个酶活性单位。

1.4 数据分析

对植物拍照后,采用 Image J 软件测量根长和株高;采用

SPSS 22.0 软件,利用差异分析法(即 *LSD* 法)进行分析;利用 Origin 9.1 对统计分析结果进行作图。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对甜高粱生长的影响

对 4 个品种的甜高粱进行耐盐试验,结果表明盐胁迫处理能明显抑制甜高粱种子的萌发,并且随着盐浓度的增加,不同品种甜高粱种子的萌发率均逐渐降低(图 1、图 2)。在正常情况下(无盐胁迫),DLW、NMW、HN 品种之间无显著差异,萌发率接近 100%,PK 萌发率约为 90%。在低浓度盐胁迫(80 mmol/L)处理下,不同甜高粱品种之间的萌发率差异不明显,与正常情况相比,DLW、NMW、HN 的萌发率无明显差异。而高浓度盐胁迫(160 mmol/L)处理使不同甜高粱品种的萌发率均受到明显抑制。在高浓度盐胁迫(160 mmol/L)处理下,DLW 萌发率降低 76%,NMW 萌发率降低 10%,HN 和 PK 的萌发率几乎为 0(图 1、图 2)。

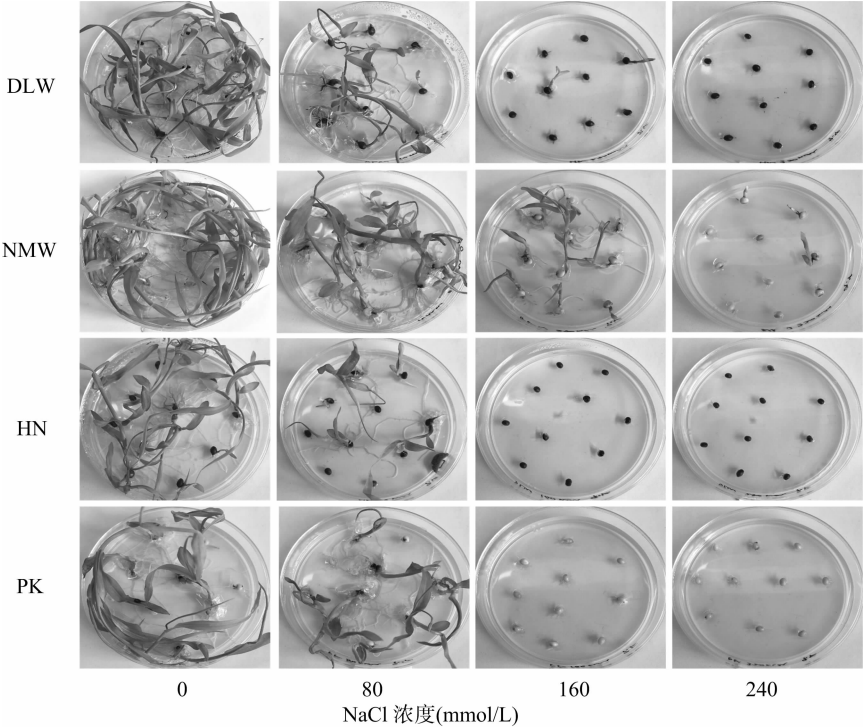
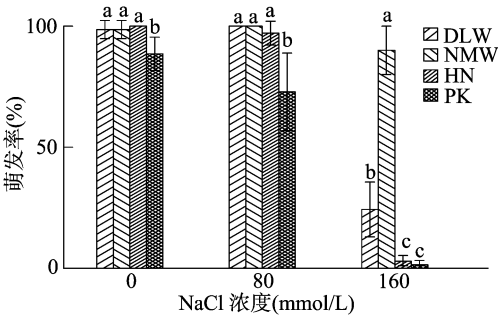


图1 不同浓度 NaCl 处理下4个品种甜高粱萌发后15 d的生长状况



同一NaCl 浓度下不同品种间标有不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下图同

图2 盐胁迫对甜高粱萌发率的影响

植物根系是吸收矿质营养和水分的重要器官,是盐胁迫原

初效应的发生部位,对地上部分的生命活动以及整个植株的生长发育具有重要调节作用^[7]。由图 3 可以看出,NaCl 对根长具有抑制作用,4 个甜高粱品种的根长均随着盐浓度的升高而减小。在正常情况下(无盐胁迫),不同品种甜高粱的根长并无显著差异,但当盐胁迫浓度为 80 mmol/L 时,不同品种甜高粱根长的相对减少量不同,NMW 根长降幅最小,减少 35.90%,其次是 DLW、PK,分别减少 43.58%、43.63%,最后是 HN,减少 71.24%。当盐胁迫浓度为 160 mmol/L 时,DLW、NMW 的根长与正常情况下(无盐胁迫)相比,分别减少 89.67%、86.30%,而 HN 和 PK 的根长生长完全受到抑制(图 3)。

盐胁迫对株高的抑制作用与对根长的抑制作用类似,由图 4 可以看出,随着盐胁迫浓度的增加,不同品种的株高均呈下降趋势,但不同品种之间存在差异。与正常情况(无盐胁迫)

迫)相比,低浓度(80 mmol/L)的盐胁迫处理使 PK 的株高减少 43.4%,其次是 HN(减少 40.8%),最后是 NMW(减少 36.6%)和 DLW(减少 24.6%),且 NMW 和 DLW 两者之间无显著差异。而当盐胁迫浓度为 160 mmol/L 时,DLW 的株高显著高于 NMW($P < 0.05$),而 HN 和 PK 的生长则完全被盐胁迫抑制。

2.2 盐胁迫对甜高粱生物量的影响

由图 5 可以看出,在正常情况(无盐胁迫)下,NMW 的干

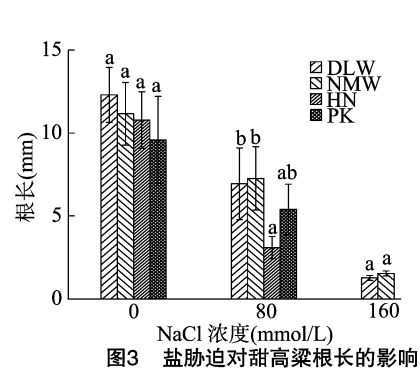


图3 盐胁迫对甜高粱根长的影响

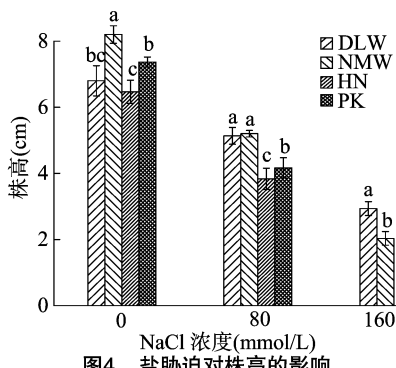


图4 盐胁迫对株高的影响

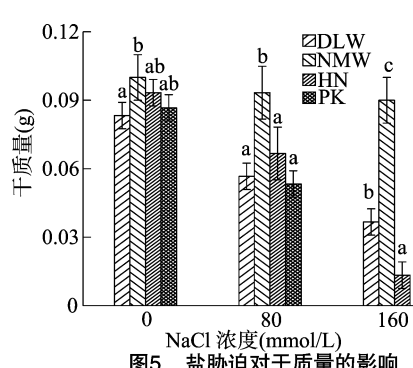


图5 盐胁迫对干质量的影响

2.3 盐胁迫对甜高粱抗氧化系统的影响

丙二醛是细胞膜不饱和脂肪酸发生过氧化作用的终产物,其含量多少可以衡量细胞膜受损伤的程度^[8]。由图 6 可以看出,随着盐浓度的变化,各品种甜高粱 MDA 含量变化趋势基本一致,都是先升高后降低。在正常情况(无盐胁迫)下,NMW 的叶片 MDA 含量显著低于其他 3 个品种($P < 0.05$),而且在 0.80 mmol/L 盐浓度胁迫处理下均处于最低水平。在低浓度盐胁迫处理下(80 mmol/L),各品种 MDA 含量均显著上升,且不同品种之间无显著差异。当盐胁迫浓度为 160 mmol/L 时,DLW 和 NMW 的 MDA 含量均明显下降,且 DLW 的 MDA 含量显著高于 NMW($P < 0.05$)。

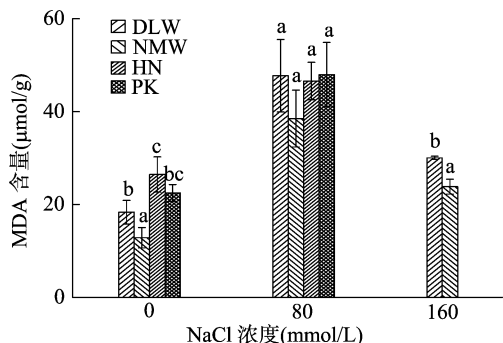


图6 盐胁迫对丙二醛的影响

脯氨酸是植物在盐胁迫下产生的一种渗透调节物质,有助于细胞或组织的保水,同时还可作为碳水化合物来源以及酶和细胞结构的保护剂^[9-10]。由图 7 可以看出,随着盐胁迫浓度的升高,4 个品种甜高粱的脯氨酸含量均呈明显上升趋势。与正常情况(无盐胁迫)相比,当盐胁迫浓度为 80 mmol/L 时,PK 和 HN 脯氨酸含量上升幅度显著高于其他 2 个品种,分别升高 3.87 倍和 3.57 倍;而 NMW 和 DLW 则分别上升 2.72 倍和 2.41 倍。当盐浓度为 160 mmol/L 时,与无盐胁迫相比,NMW 和 DLW 脯氨酸含量急剧增加,分别增加 20.5 倍和 9.8 倍。

质量显著高于其他 3 个品种,DLW、HN、PK 之间差异不显著。随着盐胁迫浓度的增加,不同品种甜高粱的干质量均显著降低($P < 0.05$),其中 NMW 较其他 3 个品种的干质量减少的最少,DLW 干质量减少的较少,其次是 HN,PK 减少的最多。NMW 在不同盐胁迫下的干质量均显著高于其他 3 个品种($P < 0.05$)。在低浓度(80 mmol/L)盐胁迫下,DLW、HN、PK 3 个品种干质量差异不显著,而在高浓度(160 mmol/L)盐胁迫下,DLW 的干质量要显著高于 HN($P < 0.05$)。

2.4 盐胁迫对植物保护酶系统的影响

过氧化氢酶是膜保护系统的一种酶,能够在逆境胁迫中清除植物体内的过氧化氢,减少氧自由基的形成,维持体内的活性氧代谢平衡,保护膜结构,减轻有毒物质对生活细胞的毒害,延迟或阻碍细胞结构的破坏,使组织保持活力^[11]。过氧化物酶作为自由基清除剂,其活性提高也可以减轻自由基对膜的损伤^[12]。由图 8、图 9 可以看出,随着盐胁迫的增加,CAT 和 POD 活性均先升高后降低,不同品种(系)甜高粱变化趋势不同。与正常情况(无盐胁迫)相比,在低浓度(80 mmol/L)盐胁迫处理下,除了 NMW,其他 3 个品种的 CAT 活性均有所升高,其中 HN 活性最高,其次是 PK,最后是 DLW。低浓度盐胁迫处理下 DLW 的 POD 活性最高,其次是 PK 和 HN。高浓度(160 mmol/L)的盐胁迫处理使不同甜高粱品种的抗氧化酶系统均受到了不可逆的损伤,DLW 和 NMW 的酶活性均急剧下降(图 8、图 9)。

3 讨论与结论

在盐胁迫中,种子最先也最容易受到盐害作用^[13]。不同品种(系)甜高粱的萌发率是表征耐盐性的重要依据之一。在盐胁迫下种子的萌发情况与植物本身的耐盐性有一定关系^[14],从萌发率来看,NMW 耐盐性最强,其他品种依次是 DLW、HN、PK。

根长和芽长是影响植物耐盐性的一个重要因素,根系的生长对地上部分和干质量具有重要影响。当根部盐胁迫增强时,高浓度的盐产生较高的渗透压,因此地上部分的生长率就会显著减少^[15]。柴媛媛等认为,相对根长和相对芽长数值越大说明耐盐性越强^[16]。综合考虑根长、芽长及干质量的相对与绝对生长量,本试验结果表明,幼苗的耐盐性排序依次是 NMW > DLW > PK > HN。

在正常条件下,细胞内自由基的产生和清除处于一种动态平衡状态,平衡体系的破坏导致自由基的积累,从而使膜内磷脂双分子层中含有的不饱和脂肪酸链易于被过氧化分解,

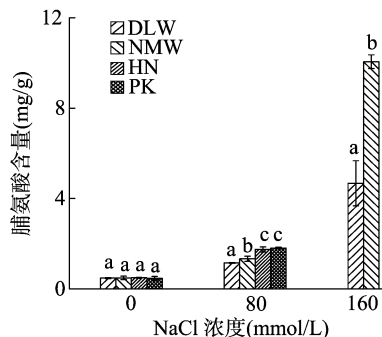


图7 盐胁迫对脯氨酸含量的影响

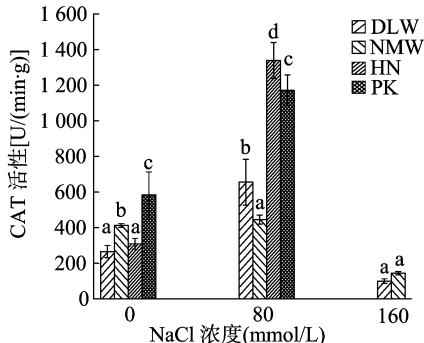


图8 盐胁迫对过 CAT 的影响

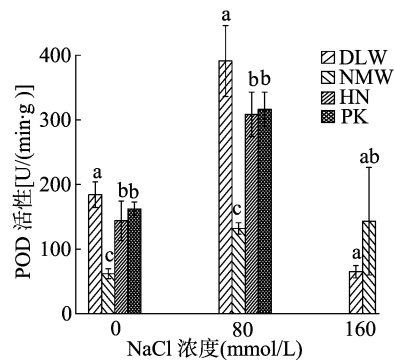


图9 盐胁迫对 POD 的影响

造成膜整体的破坏^[11]。POD 和 CAT 均是植物体内的自由基清除剂,属于保护酶系统。一般情况下,盐胁迫下保护酶活性增强,使体内的活性氧自由基保持在较低的水平,在一定的盐胁迫下防止生物膜结构和功能的破坏。

本试验中,低浓度(80 mmol/L)盐胁迫处理下,不同品种甜高粱 MDA 含量均明显升高,说明植物受到了盐害作用。与之对应的,CAT 和 POD 2 种抗氧化酶的活性升高,表明盐害刺激引起了甜高粱体内的抗氧化保护机制,机体内清除活性氧的机制启动,保护植物不受盐分损伤。与此同时,不同品种甜高粱脯氨酸含量的增加,说明甜高粱通过渗透调节物质含量的提高来增强细胞的渗透调节能力,以减少盐离子对植物细胞造成的损伤。当盐浓度达到 160 mmol/L 时,HN 和 PK 均不能萌发,而 NMW 和 DLW 根长、株高、生物量都受到了明显的抑制,并且抗氧化酶系统也受到了破坏,活性降低,虽然脯氨酸含量均急剧升高,却不能抑制这种不可逆的损伤。脯氨酸不仅具有渗透压调节功能,还是活性氧清除剂,因而在胁迫条件下可能起到稳定蛋白质和膜结构的作用^[17-18]。这可能是 NMW 在相同浓度盐胁迫下,其酶活性较低而生物量较高的一个原因。

从不同品种甜高粱在不同盐浓度下的萌发率、根长、株高、干质量、MDA 含量、脯氨酸含量及保护酶活性的变化可以看出,NMW 相对其他品种的耐盐性最强,其次是 DLW,而 PK 和 HN 易受盐胁迫影响。当盐胁迫浓度较低时,保护酶活性升高及渗透压调节物质的增加有利于甜高粱品种耐盐性的提高,而当盐胁迫浓度较高时,植物的保护酶系统产生不可逆损伤,此时渗透压调节物质对保护植物起到重要的作用。

参考文献:

- [1] 牛东玲,王启基. 盐碱地治理研究进展[J]. 土壤通报,2002,33(6):449-455.
- [2] 刘友兆,吴春林,马欣. 江苏滩涂资源开发利用研究[J]. 中国农业资源与区划,2004,25(3):6-9.
- [3] Zhang Y M, Lu H, Yuan Y, et al. Neuroprotective effects of combined lead and cadmium, as well as N-acetylcysteine, on cerebral cortical neurons following lipid peroxidation injury[J]. Neural Regeneration Research, 2009, 4(11): 907-911.
- [4] Guo G T, Wang K N, Li X. A comparative study of the difference method and the enzyme-hydrolyzed casein method for determining true amino acid digestibilities and endogenous amino acid losses in duck feed[J]. Journal of Animal Science and Biotechnology, 2010, 1

(2):101-107.

- [5] Katiyar A, Lenka K S, Lakshmi K, et al. In silico characterization and homology modeling of thylakoid-bound ascorbate peroxidase from a drought tolerant wheat cultivar[J]. Genomics Proteomics Bioinformatics, 2009, 7(4): 185-193.
- [6] Bilal H, Hassan S A, Khan I A. Isolation and efficacy of entomopathogenic fungus (*Metarhizium anisopliae*) for the control of *Aedes albopictus* Skuse larvae; suspected dengue vector in Pakistan[J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2012, 2(4): 298-300.
- [7] Deinlein U, Stephan A B, Horie T, et al. Plant salt-tolerance mechanisms[J]. Trends in Plant Science, 2014, 19(6): 371-379.
- [8] Gao Q, Yue G D, Li W Q, et al. Recent progress using high-throughput sequencing technologies in plant molecular breeding[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2012, 54(4): 215-227.
- [9] An X R, Gou K M, Chen Y F. Production of transgenic blastocyst of sheep by somatic cell cloning[J]. Chinese Science Bulletin, 2001, 46(19): 1630-1634, 1674.
- [10] Verslues P E, Agarwal M, Katiyar - Agarwal S, et al. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status[J]. Plant Journal, 2006, 45(4): 523-539.
- [11] 李景生,黄韵珠. 浅述植物的耐盐机理[J]. 植物学通报, 1995, 12(3): 15-18.
- [12] 吴发远,葛江丽. NaCl 胁迫对甜高粱幼苗抗性酶活性的影响[J]. 中国农学通报, 2009, 25(6): 136-139.
- [13] Jia X Y, Zhou X D, Liu H S, et al. Effect of Mn²⁺ and Fe²⁺ stress on the seed germination and seedling growth of *Phytolacca acinosa* Roxb[J]. Medicinal Plant, 2010, 38(11): 2533-2542.
- [14] 邵红雨,孔广超,齐军仓,等. 植物耐盐生理生化特性的研究进展[J]. 安徽农学通报, 2006, 12(9): 51-53.
- [15] Jia Y H, Sun J L, Wang X W, et al. Molecular diversity and association analysis of drought and salt tolerance in *Gossypium hirsutum* L. germplasm[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2014, 13(9): 1845-1853.
- [16] 柴媛媛,史团省,谷卫彬. 种子萌发期甜高粱对盐胁迫的响应及其耐盐性综合评价分析[J]. 种子, 2008, 27(2): 43-47.
- [17] Ashraf M, Foolad M R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance[J]. Environmental and Experimental Botany, 2007, 59(2): 206-216.
- [18] Verbruggen N, Hermans C. Proline accumulation in plants: a review[J]. Amino Acids, 2008, 35(4): 753-759.