

马钱波,谷文英. 硝普钠和油菜素内酯对盐胁迫菊苣根系渗透物质的调节作用[J]. 江苏农业科学,2018,46(12):99-101.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.12.023

硝普钠和油菜素内酯对盐胁迫菊苣根系渗透物质的调节作用

马钱波, 谷文英

(扬州大学动物科学与技术学院, 江苏扬州 225009)

摘要:采用沙培法培养将军菊苣(*Cichorium intybus* L. cv. Commander)幼苗,40 d 后用外源性一氧化氮(NO)供体硝普钠(SNP,200 $\mu\text{mol/L}$)和油菜素内酯(EBR,50 $\mu\text{mol/L}$)水溶液分别喷洒菊苣幼苗的叶面,以清水喷洒为对照组,连续处理3 d,用NaCl(140 mmol/L)溶液对菊苣幼苗进行胁迫处理,5、10、15、20 d 时取样检测根系含水量及其渗透调节物质菊糖和可溶性蛋白含量的变化。结果表明,盐胁迫各组菊苣根系的含水量显著低于各对照组,SNP 和 EBR 预处理的各组根系含水量显著高于未受预处理各组($P < 0.05$)。SNP 和 EBR 对盐胁迫下菊苣根系的菊糖含量起到不同的显著作用($P < 0.05$),菊糖含量的变化总体上呈现先上升后下降的趋势,SNP 和 EBR 处理分别在 10、5 d 达到峰值。就可溶性蛋白含量而言,盐胁迫下可溶性蛋白含量显著上升,SNP、EBR 能显著提高盐胁迫下可溶性蛋白的含量($P < 0.05$),20 d 与 0 d 相比,分别提高 53.78%、44.39%。可以看出 2 种外源物质对菊苣盐胁迫存在缓解作用。

关键词:菊苣;硝普钠;油菜素内酯;盐胁迫

中图分类号: Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)12-0099-03

盐胁迫对植物的正常生长有着很大的危害。一方面,富盐对植物生长基质土壤的理化性质造成影响,使土壤团粒结构破坏,孔隙度减少,透水通气性变差,土壤易板结^[1];另一方面,富盐对植物本身也会产生不良影响,最直观地表现为生长受到抑制,生长速度减缓,甚至直接对其具有毒害作用^[2]。

外源一氧化氮(NO)和油菜素内酯(EBR)是 2 种不同的外源物质,但 2 种外源物都被用来进行提高植物抗逆性的研究。NO 的研究较早,因为其作用广泛,参与动植物体内许多生理病理过程^[3],并对多种胁迫具有缓解作用,一直以来都是研究的热点。EBR 是近年来人们对植物的深入研究而发现并提取的一种新型植物激素,具有含量低、生理活性高的特点^[4]。对于油菜素内酯的抗逆性逐渐成为研究的热点问题。

菊苣品种众多,除了用作叶菜类蔬菜,饲用菊苣品种也是一种高产优质的饲用植物,菊苣根系中含有丰富的菊糖和芳香族物质,因此具有多方面的开发潜力^[5]。我国江苏沿海城市多有滩涂形成,这种土质却不适合绝大多数植物生存^[6],菊苣具有一定的耐盐能力。本试验拟通过施用 2 种外源物质 NO、EBR,并从菊苣根系含水量、可溶性糖和可溶性蛋白含量变化的角度来了解这 2 种外源物质对盐胁迫的缓解作用,从而提高菊苣的耐盐能力。

1 材料与方法

1.1 试验材料的准备

收稿日期:2017-01-13

基金项目:扬州大学博士启动基金(编号:137010276)。

作者简介:马钱波(1994—),男,江苏镇江人,硕士研究生,主要从事饲草与草畜结合研究。E-mail:1601555436@qq.com。

通信作者:谷文英,博士,讲师,主要从事草坪和组织培养研究。

E-mail:741851956@qq.com。

本试验于 2016 年 5 月在扬州大学草业温室内进行。所选取的试验材料为百绿国际草业有限公司提供的将军菊苣(*Cichorium intybus* L. cv. Commander),将种子进行消毒处理,用 2% NaClO 浸泡 10 min^[7],然后将蒸馏水漂洗 3 遍的种子均匀分布在铺有 2 层滤纸的培养皿上,并用蒸馏水使培养皿内部保持湿润,发芽过程在恒温光照培养箱中进行,其中昼一夜周期为 14 h—10 h,温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ ^[8]。10 d 后,选择生长状态较为一致的菊苣幼苗采用沙培法培养,具体用内装黄沙、底部有孔的育苗盒,每个小盒中转移 1 株幼苗,之后浇水采用改良 Hoagland 营养液,统一采用根部浇灌。40 d 后,对生长到一定程度的试验材料进行不同处理。

沙培 40 d 后在所育成的菊苣成株中随机取出 10 株,并对地上部与地下部分别收集。其余植株分别参照表 1 作相应处理。同时预处理时间设为 3 d,在盐胁迫之前,采用叶面喷施法,每天 2 次(早晨和傍晚各 1 次),每组固定相同剂量,喷施至叶面有液体流出为止。分别在处理 5、10、15、20 d 时对各处理组取样。

1.2 测定方法

1.2.1 根系含水量 将新鲜菊苣的根系用流水冲去细尘和附着的黄沙,切取菊苣的根系,用滤纸擦干其表面水分,每个处理取 3 株,分别测定质量,记为 m_1 。将各组各株分开放入烘箱中,在 85 $^{\circ}\text{C}$ 过夜烘干至恒质量,再迅速称取每个根系的质量,记为 m_2 。通过公式 $(m_1 - m_2)/m_1 \times 100\%$ 计算根系含水量。

1.2.2 根系菊糖含量 将各组新鲜菊苣的根系于烘箱 105 $^{\circ}\text{C}$ 烘 30 min,然后于 70 $^{\circ}\text{C}$ 过夜继续烘,将干根系磨碎后按照不同处理收集放入密封袋中,待试验取用。由于菊苣中的菊糖含量普遍高于其他植物,菊糖主要分布于菊苣的根系^[9],而菊糖又是一种倍受关注的链状多糖。

表 1 试验方案设计

处理	预处理	处理
对照	无	Hoagland 营养液
NaCl	无	Hoagland 营养液 + 140 mmol/L NaCl
SNP	200 μmol/L SNP	Hoagland 营养液
SNP - NaCl	200 μmol/L SNP	Hoagland 营养液 + 140 mmol/L NaCl
EBR	50 μmol/L EDR	Hoagland 营养液
EBR - NaCl	50 μmol/L EDR	Hoagland 营养液 + 140 mmol/L NaCl

目前还没有特别明确直接测定菊糖含量的方法,但由于菊糖是非还原性的聚糖,而其中的葡萄糖和果糖都是还原糖,因此在菊糖含量的测定上可采用总糖含量减去还原糖含量的方法^[10]。本试验方法根据张志良等编写的《植物生理学实验指导》^[11],采用蒽酮比色法,测 $D_{625\text{ nm}}$,并根据方程测得可溶性糖含量。采用 3,5 - 二硝基水杨酸法(DNS 法),测 $D_{540\text{ nm}}$,并根据方程测得菊糖含量。菊糖含量 = 可溶性总糖含量 - 还原糖含量。

1.2.3 根系可溶性蛋白含量 可溶性蛋白是植物细胞中重要的渗透调节物质之一,其含量的高低影响植物细胞的渗透势,植物细胞中高浓度的可溶性蛋白可以维持较低的渗透势,帮助植物抵抗胁迫环境带来的伤害。

取不同处理组待测的菊苣的根系先剪碎,然后在液氮中研磨成粉末状,现处理现用。采用考马斯亮蓝法^[9]测定可溶性蛋白含量,测 $D_{595\text{ nm}}$,并计算可溶性蛋白的含量。

1.3 试剂和仪器

本试验所用试剂均为分析纯;使用上海舜宇恒平公司生

产的 FA2004 型电子天平进行称量;使用德国 EPPENDORF 公司的 Centrifuge 5430R 高速离心机和成都仪器厂的 HS - 4 型恒温浴槽进行样品处理;使用 HITACHI 公司的 UH5300 双光束分光光度计测定吸光度。

1.4 指标分析方法

采用 Excel 2007 进行数据整理;采用 SPSS 22.0 软件分析,使用 Duncan's 法,分别就同一处理的不同时间点,不同处理的同一时间点(即横向比较和纵向比较)进行分析。

2 结果与分析

2.1 SNP 和 EBR 预处理对菊苣根系含水量的影响

含水量能从侧面反映干物质的含量。由表 2 可以看出,空白对照和 NaCl 对照根系含水量先下降后上升,分别在 10、5 d 含量最低,至 20 d 两者与 0 d 相比均无显著差异($P > 0.05$)。EBR 组、EBR - NaCl 组、SNP 组、SNP - NaCl 组根系含水量则呈现先上升后下降最后再上升的波动,最终与 0 d 相比显著上升($P < 0.05$)。在各个时间点施用 EBR 和 SNP 组的含水量高于空白对照组,并在早期(5、10 d)与对照差异显著($P < 0.05$)。与空白对照相比,盐胁迫在一定程度上降低了根系含水量,但最终无明显差异;与盐对照相比,喷施 EBR 和 SNP 均能在盐胁迫下提高根系含水量,并在 5、10 d 与盐对照有显著差异($P < 0.05$),SNP 效果更久,能达到 15 d。由此可见,2 种外源物质对菊苣含水量的稳定是有作用的,并且能够提高菊苣根系的含水量。

表 2 不同处理对菊苣根系含水量的影响

处理	含水量(%)				
	0 d	5 d	10 d	15 d	20 d
空白对照	89.39 ± 0.52ABa	89.39 ± 1.74Bb	87.82 ± 1.77Bbc	90.35 ± 0.82ABbc	92.44 ± 0.79Aab
NaCl 对照	89.39 ± 0.52ABa	84.51 ± 0.97Cb	86.39 ± 1.49BCc	89.12 ± 1.04ABc	91.51 ± 0.13Ab
EBR	89.39 ± 0.52Ba	93.24 ± 0.15Aa	92.58 ± 0.96Aa	92.05 ± 0.41Aab	93.22 ± 0.40Aab
EBR - NaCl	89.39 ± 0.52Ba	92.19 ± 0.88Aa	91.34 ± 2.06Aab	91.09 ± 0.63Abc	92.11 ± 0.65Aab
SNP	89.39 ± 0.52Ba	93.36 ± 0.14Aa	93.11 ± 0.31Aa	93.48 ± 0.67Aa	94.48 ± 0.66Aa
SNP - NaCl	89.39 ± 0.52Ba	92.24 ± 0.92Aa	92.33 ± 0.14Aa	91.91 ± 0.13Aab	92.42 ± 1.22Aab

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),同行数据后不同大写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下表同。

2.2 SNP 和 EBR 预处理对菊苣根系菊糖含量的影响

由于菊糖属于非还原性聚糖,而多糖都是非还原糖,菊苣中多糖有菊糖、淀粉等,淀粉又多存在于菊苣的地上部分,采用“1.2.2”节方法测定,并得出结果。从表 3 可以看出,各组菊糖含量变化是不同的,空白对照在 20 d 内虽有波动,但差异不显著,NaCl 对照则表现为先上升后下降的趋势,并在 10 d 时到峰值 9.60 mg/g,且每 5 d 间差异显著($P < 0.05$)。EBR 组表现为先降低后升高的趋势,并在 20 d 时与 0 d 相比升高显著,达到 9.43 mg/g($P < 0.05$)。SNP 组虽也表现出先下降后上升的趋势,但最终变化不显著,而 EBR - NaCl 和 SNP - NaCl 2 组均表现为先上升后下降的趋势,但出现峰值的时间不同,前者在 5 d,早于后者的 10 d,同时后者与盐对照峰值时间相同;15 d 之后可以看出外源物质的效应减弱,在 20 d 时各处理组菊糖含量都有所下降,表现为 NaCl 组(8.65 mg/g)显著低于 SNP 预处理胁迫组(8.96 mg/g);SNP 预处理胁迫组的菊糖含量显著低于 EBR 预处理胁迫组的 9.28 mg/g($P < 0.05$)。从 20 d 内各组变化可以发现,EBR

对菊糖的作用效果持续时间更长,效果更明显。

2.3 SNP 和 EBR 预处理对菊苣根系可溶性蛋白含量的影响

可溶性蛋白含量的变化是衡量植物是否受到胁迫的可靠依据,一般植物会提高其可溶性蛋白含量来缓解所受到的胁迫。由表 4 可以看出,空白对照组可溶性蛋白含量没有显著变化,在 NaCl 对照组中可溶性蛋白含量一直呈上升趋势,最终达到 0.608 mg/g,并且各时间点间差异显著($P < 0.05$)。EBR 组和 SNP 组可溶性蛋白含量也呈显著上升趋势($P < 0.05$),最终分别达到 0.513、0.514 mg/g,但显著低于 NaCl 对照组,高于空白对照组($P < 0.05$)。EBR - NaCl 和 SNP - NaCl 2 组的变化略有不同,前者在 0 ~ 10 d 显著上升($P < 0.05$),10 ~ 20 d 差异不显著,并在 15 d 达到峰值 0.633 mg/g;后者则一直呈显著上升趋势($P < 0.05$),并在 20 d 达到测定峰值 0.672 mg/g。由此可以发现,2 种外源物质对菊苣可溶性蛋白含量变化是存在影响的,SNP 的持续时间更久,可溶性蛋白是植物抵抗外界胁迫的关键物质,而 EBR 和 SNP 对提高菊苣耐盐性与 NaCl 组相比是有显著作用的($P < 0.05$)。

表 3 不同处理对菊苣根系菊糖含量的影响

处理	菊糖含量 (mg/g)				
	0 d	5 d	10 d	15 d	20 d
空白对照	9.19 ± 0.03A	9.09 ± 0.04Ad	9.13 ± 0.03d	9.18 ± 0.01Ab	9.16 ± 0.12Ab
NaCl 对照	9.19 ± 0.03C	9.46 ± 0.01Bc	9.60 ± 0.02Ac	9.21 ± 0.04Cb	8.65 ± 0.06Dd
EBR	9.19 ± 0.03B	9.10 ± 0.03Bd	8.89 ± 0.03Ce	9.17 ± 0.04Bb	9.43 ± 0.03Aa
EBR - NaCl	9.19 ± 0.03B	9.92 ± 0.03Aa	9.77 ± 0.00Ab	9.36 ± 0.00Ba	9.28 ± 0.02Bb
SNP	9.19 ± 0.03A	9.09 ± 0.16Ad	9.04 ± 0.03Bd	9.18 ± 0.06Ab	9.17 ± 0.01Ab
SNP - NaCl	9.19 ± 0.03C	9.82 ± 0.01Ab	9.92 ± 0.04Aa	9.40 ± 0.03Ba	8.96 ± 0.03Dc

表 4 不同处理对菊苣根系可溶性蛋白含量的影响

处理	可溶性蛋白含量 (mg/g)				
	0 d	5 d	10 d	15 d	20 d
空白对照	0.437 ± 0.006A	0.438 ± 0.002Af	0.437 ± 0.002Af	0.436 ± 0.002Af	0.438 ± 0.002Ae
NaCl 对照	0.437 ± 0.006E	0.503 ± 0.005Dc	0.557 ± 0.002Cc	0.594 ± 0.002Bc	0.608 ± 0.001Ac
EBR	0.437 ± 0.006E	0.458 ± 0.003Da	0.471 ± 0.001Cd	0.494 ± 0.002Bd	0.513 ± 0.002Ad
EBR - NaCl	0.437 ± 0.006C	0.588 ± 0.005Bd	0.625 ± 0.003Ab	0.633 ± 0.001Ab	0.631 ± 0.001Ab
SNP	0.437 ± 0.006D	0.447 ± 0.003Ce	0.449 ± 0.003Ce	0.481 ± 0.002Be	0.514 ± 0.002Ad
SNP - NaCl	0.437 ± 0.006E	0.566 ± 0.004Db	0.650 ± 0.001Ca	0.663 ± 0.002Ba	0.672 ± 0.002Aa

3 讨论

已有研究表明,植物长期生长在高 NaCl 环境下会造成盐胁迫,而盐胁迫造成的危害最主要的是渗透胁迫,其次还有一些次生胁迫,如营养胁迫和氧化胁迫等^[12]。本试验主要研究菊苣的渗透胁迫,渗透胁迫是在根系所处环境含盐量高于植物生长最适盐浓度时,由于根系周围环境水势降低,而导致植物根系难以吸水,从而引发膨压下降、叶片失水甚至枯黄等一系列连锁反应。周妍的研究表明,不同类型盐胁迫下大豆的根系含水量会显著降低($P < 0.05$)^[13],谷文英等的研究中得出近似的结论^[7],在本试验中,也得出了相似的结果,即受到盐胁迫的菊苣的根系含水量显著低于未受胁迫组($P < 0.05$),这与植物的适应机制相一致。

外源一氧化氮作为一种信号分子,因为其被研究证明能够参与植物生长的许多过程,被很多学者研究使用,其中一个显著作用就包括对各种胁迫的响应。而有些植物也能产生适应盐环境的结构来应对渗透胁迫或者改变自身某些物质来反馈渗透胁迫的存在,后者大多数能起到缓解作用。本试验主要研究菊苣的有机溶质。周妍在其研究中表明,大豆根系可溶性糖含量在盐胁迫下显著上升($P < 0.05$)^[13],而李辉等在研究菊芋时发现盐处理则会降低可溶性糖含量^[14],这可能和不同植物缓解胁迫的差异有关。而本研究显示,菊苣根系糖分含量变化呈现为先上升后下降的趋势,但是存在外源一氧化氮和油菜素内酯预处理的菊苣,后期降低趋势显著低于未预处理组($P < 0.05$)。已有研究表明,在盐胁迫下植物细胞的高尔基体会更加活跃,从而促进蛋白质的合成,雷钧杰等测定了 10 种植物在盐环境下可溶性蛋白含量的变化,发现在盐胁迫下可溶性蛋白的含量均有所上升^[15],本试验得出类似的结论,但是在 2 种外源物预处理下,可溶性蛋白含量的增加速度更快,并且能够持续更长时间,可是没有外源物预处理的菊苣可溶性蛋白含量则表现出先上升后下降的变化过程。

4 结论

盐胁迫能显著降低菊苣根系含水量,同时 2 种外源物质

能显著提高菊苣根系含水量($P < 0.05$);外源一氧化氮和油菜素内酯对菊苣根系不同糖含量在盐胁迫下都存在显著影响($P < 0.05$);2 种外源物质对菊苣根系不同种糖含量在盐胁迫下的影响是存在显著差异的($P < 0.05$);对盐胁迫下菊苣根系可溶性蛋白含量变化存在影响,并且持续时间不同。由此可见,2 种外源物质对菊苣盐胁迫都能起到缓解作用。

参考文献:

- [1] 陈绍荣,邵建华,王喜江,等. 我国土壤盐渍化的综合治理[J]. 化肥工业,2013,40(5):65-69.
- [2] 徐晨,凌风楼,徐克章,等. 盐胁迫对不同水稻品种光合特性和生理生化特性的影响[J]. 中国水稻科学,2013,27(3):280-286.
- [3] 张奕华,彭司勋. 一氧化氮及其调控剂的研究[J]. 中国药科大学学报,2001,32(5):321-328.
- [4] 侯雷平,李梅兰. 油菜素内酯(BR)促进植物生长机理研究进展[J]. 植物学通报,2001,18(5):560-566.
- [5] 梁小玉,张新全,季杨. 菊苣功能及产品开发生态研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医,2012,6(11):34-36.
- [6] 张文渊. 苏打盐渍土的改良利用[J]. 土壤,1977,21(3):46-48.
- [7] 谷文英,李兴正,祈新梅,等. 外源一氧化氮对盐胁迫下菊苣生长及渗透调节物质的影响[J]. 生态学杂志,2013,32(3):615-620.
- [8] 谷文英. 外源一氧化氮调控菊苣盐适应性机制研究[D]. 扬州:扬州大学,2013:1-119.
- [9] 杨亚丽. 菊苣有效成分的提取工艺研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2006:1-38.
- [10] 陈秀枝,沈辰婷,曹未音,等. 菊芋中菊糖提取方法的比较[J]. 江苏农业科学,2013,41(11):312-314.
- [11] 张志良,瞿伟菁,李小方. 植物生理学实验指导[M]. 4 版. 北京:高等教育出版社,2009:103-105.
- [12] 武香. 盐胁迫下植物的渗透调节及其适应性研究[D]. 北京:中国林业科学研究院,2012:1-75.
- [13] 周妍. 盐胁迫对大豆种子萌发、离子平衡及可溶性糖含量影响的研究[D]. 长春:东北师范大学,2014:1-67.
- [14] 李辉,康健,赵耕毛,等. 盐胁迫对菊芋干物质和糖分积累分配的影响[J]. 草业学报,2014,23(2):160-170.
- [15] 雷钧杰,聂新辉,尤春源,等. 盐分胁迫下四翅滨藜耐盐营养生理的研究[J]. 新疆农业科学,2010,47(11):2230-2233.