

黄程,文小梅,唐殷,等. 外源水杨酸对盐胁迫下小白菜幼苗生理的影响[J]. 江苏农业科学,2020,48(7):147-151.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.07.027

# 外源水杨酸对盐胁迫下小白菜幼苗生理的影响

黄程,文小梅,唐殷,郭磊周,江世杰,代其林

(西南科技大学生命科学与工程学院,四川绵阳 621010)

**摘要:**采用叶面喷施法探讨水杨酸(SA)对不同时间段 NaCl 胁迫下小白菜(*Brassica campestris* L.)幼苗生理的影响。结果表明,随着盐胁迫时间的延长,SA 预处理的小白菜幼苗叶片叶绿素含量、相对含水量、脯氨酸含量、可溶性糖含量、可溶性蛋白质含量、过氧化物酶(POD)活性和超氧化物歧化酶(SOD)活性以及相关基因的表达量均高于对照处理;而丙二醛含量和相对电导率均低于对照处理。在整个盐胁迫过程中,相对含水量、叶绿素含量、可溶性蛋白含量、可溶性糖含量以及脯氨酸含量呈不断下降的趋势;丙二醛含量和相对电导率呈不断上升的趋势;POD 活性以及 SOD 活性呈先上升后下降的趋势,峰值均出现在 3 d。POD 基因与 SOD 基因的相对表达量呈先上升后下降的趋势,且峰值出现在 3 d。分析结果表明,外源水杨酸可以通过提高叶绿素含量、相对含水量、渗透调节物质含量来上调抗氧化酶基因的表达,增强抗氧化酶活性,并且减轻细胞膜损伤来缓解盐胁迫对小白菜幼苗的伤害,从而提高小白菜幼苗的抗盐能力。

**关键词:**水杨酸;小白菜;盐胁迫;生理生化;基因表达

**中图分类号:** S634.301 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)07-0147-05

据统计,地球盐渍土地面积约占陆地总面积的 1/3,而土壤盐渍化问题给农业发展带来了诸多负面影响,给农作物的生产带来了极大的阻碍。目前,也出现了许多土壤改良剂、土壤调理剂来改善土壤

中出现的各种问题,但并不能从根本上解决土壤盐渍化对植物造成的伤害<sup>[1-2]</sup>。土壤盐分降低了土壤资源价值,给生产性农业带来巨大损失,对环境造成威胁,从而加大了对经济 and 环境的危害<sup>[3]</sup>。当植物体处于盐胁迫环境下时,会导致体内活性氧的大量产生并且导致活性氧清除系统之间的失衡。活性氧的累积会引起膜质过氧化反应并且伤害细胞膜<sup>[4]</sup>,而植物体内产生的活性氧可以通过抗氧化酶之间的协同作用来清除<sup>[5-6]</sup>。桑利敏研究发现,当甜菜幼苗处于盐胁迫条件下时,其出芽率、叶绿素含量、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶、过氧化

收稿日期:2019-09-16

基金项目:国家科技重大专项(编号:2019ZX08010004-005);西南科技大学博士研究基金(编号:11zx7104)。

作者简介:黄程(1993—),男,四川绵阳人,硕士,主要从事植物逆境生理与分子生物学研究。E-mail:787948046@qq.com。

通信作者:代其林,博士,副教授,主要从事植物逆境生理与分子生物学研究。E-mail:daiqilinmj@sina.com。

[18] Xie Z, Ebinghaus R, Temme C, et al. Occurrence and air-sea exchange of phthalates in the Arctic[J]. Environmental Science & Technology, 2007, 41(13): 4555-4560.

[19] 陈波,林建国,陈清. 水环境中的邻苯二甲酸酯类污染物及其环境行为研究[J]. 环境科学与管理, 2009, 34(2): 71-75.

[20] 李海海,黄岁樑. 水环境中邻苯二甲酸酯的迁移转化研究[J]. 环境污染与防治, 2006, 28(11): 853-858.

[21] Stales C A, Peterson D R, Parkerton T F, et al. The environmental fate of phthalate esters; a literature review[J]. Chemosphere, 1997, 35(4): 667-749.

[22] Cai Q Y, Mo C H, Wu Q T, et al. The status of soil contamination by semivolatile organic chemicals (SVOCs) in China; a review[J]. The Science of the Total Environment, 2008, 389(2/3): 209-224.

[23] 肖凯恩,莫测辉,蔡全英. 珠江三角洲蔬菜基地蔬菜中邻苯二甲

酸酯的含量特征[J]. 四川环境, 2012, 31(3): 49-55.

[24] 尹睿,林先贵,王曙光,等. 土壤中 DBP/DEHP 污染对几种蔬菜品质的影响[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(1): 1-5.

[25] 曾巧云,莫测辉,蔡全英,等. 邻苯二甲酸二丁酯在不同品种菜心-土壤系统的累积[J]. 中国环境科学, 2006, 26(3): 333-336.

[26] 鲁磊安. 珠三角地区水稻邻苯二甲酸酯污染特征研究[D]. 广州:暨南大学, 2016.

[27] 任旭琴,高军,陈伯清,等. 辣椒 DBP/DIBP 胁迫及其修复剂优化和机理研究[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(6): 1121-1126.

[28] 余东,许家辉,李永裕,等. Cd 胁迫对枇杷叶片酶活性及膜透性的影响[J]. 热带作物学报, 2008, 29(2): 154-158.

[29] 刘春晓,王平,李海燕,等. DBP 对铜绿微囊藻生长和抗氧化酶的影响[J]. 环境科学与技术, 2015, 38(2): 7-12.

氢酶和抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 的活性等各项生理指标均呈现下降趋势, 植物生长受到限制<sup>[7]</sup>。师晨娟等论述了多胺、细胞分裂素、乙烯、脱落酸等激素对盐胁迫下植物的缓解作用与作用机制<sup>[8]</sup>, 如吲哚乙酸对盐胁迫下的番茄幼苗具有缓解作用, 脱落酸 (ABA) 可以提高盐胁迫下小麦的产量等<sup>[9-10]</sup>。水杨酸 (SA) 可以提高烟草对病毒的抗性, 并且在黄瓜体内可以作为介导系统获得性抗性 (SAR) 传递的内源信号<sup>[11-12]</sup>, 可以提高植物体的抗逆性<sup>[13-14]</sup>。

目前, 关于 SA 对小白菜幼苗抗盐生理方面的研究较少, 探究 SA 对盐胁迫下小白菜幼苗生理的影响, 有利于为日后小白菜在盐胁迫环境的栽培生产提供一定的理论参考。本研究以小白菜为试验材料, 研究盐胁迫下 SA 对小白菜幼苗生理生化过程的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试小白菜品种为温州快菜, 购自绵阳龙门农贸市场。温州快菜生长周期短, 生育期 60 d, 我国南北各地均可种植。

### 1.2 方法

选取饱满的小白菜种子, 用 1% NaClO 溶液消毒处理 10 min, 用蒸馏水清洗后在 25 ℃ 的温室中浸种 2 d, 然后置于 25 ℃ 组织培养室内催芽 2 d。选取长势一致的小白菜出芽种子, 均匀地栽种在盛有石英砂的塑料盘中 (规格为 120 cm × 30 cm), 共 12 盘, 然后加入清水, 放入 (25 ± 1) ℃、光/暗周期 12 h/12 h、光流密度 200 μmol/(m<sup>2</sup> · s) 条件下的培养室中培养。当小白菜幼苗第 1 张叶张开时, 开始添加 MS 培养液, 培养至 3 叶 1 心期。把小白菜幼苗分成 2 组, 一组小白菜幼苗叶片上均匀喷施浓度为 0.5 mmol/L 的水杨酸溶液, 另一组小白菜叶片喷施蒸馏水作为对照。静置 1 d 后, 去掉盘中原来的 MS 培养液, 再将喷施了 SA 和蒸馏水的小白菜幼苗置于含有 200 mmol/L 的 NaCl 溶液中培养 1 d, 从上往下数取小白菜幼苗的第 3 张幼叶为试验材料, 每个试验均重复 3 次, 取平均值。

### 1.3 指标测定方法

按照丙酮乙醇混合法<sup>[15]</sup>测定叶绿素含量; 按照浸泡法<sup>[16]</sup>测定相对电导率; 按照王学奎的方法<sup>[17]</sup>测定可溶性糖含量; 按照茚三酮法<sup>[18]</sup>测定脯氨酸含量; 按照陈建勋等的方法<sup>[19]</sup>测定相对含水量; 用

NBT 光还原法测定 SOD 活性; 用 Omran 法<sup>[20]</sup>测定 POD 活性; 按照 Lowry 法<sup>[20]</sup>测定可溶性蛋白含量; 按照硫代巴比妥酸 (TBA) 比色法<sup>[18]</sup>测定丙二醛含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 SA 对盐胁迫下小白菜幼苗叶片生理干旱情况的影响

植物叶片的相对含水量可以反映植物对盐胁迫所带来的生理干旱的抵抗能力。在一定范围内, 植物叶片含水量高, 说明其体内的生理生化反应可以正常进行, 能够保证正常的新陈代谢<sup>[21-22]</sup>。由图 1 可知, 随着盐胁迫时间的延长, 小白菜幼苗叶片含水量明显下降, 在盐胁迫过程中, 经 SA 预处理的小白菜幼苗叶片含水量均高于对照处理 (蒸馏水处理), 在盐胁迫的 4 d 时, SA 处理的小白菜和对照处理的小白菜的含水量差达到最大。表明喷施 SA 有利于减缓小白菜幼苗在盐胁迫下含水量的下降, 缓解了小白菜幼苗的生理干旱, 增强了小白菜的盐胁迫抗性。

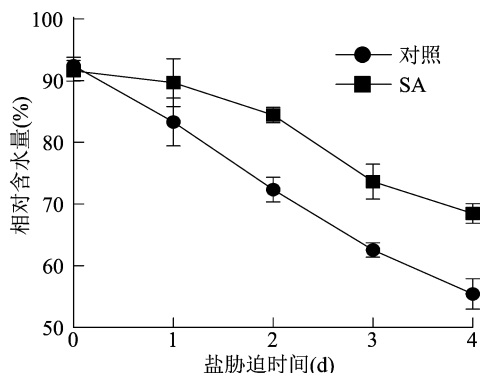


图1 SA 对盐胁迫下小白菜幼苗叶片含水量的影响

### 2.2 SA 对盐胁迫下小白菜幼苗质膜的影响

当植物处于非生物胁迫下时, 其质膜会受到伤害, 相对电导率和丙二醛含量增加<sup>[21-22]</sup>。由图 2 可知, 相对电导率和丙二醛含量均随着盐胁迫时间的延长而增加, 经 SA 预处理的小白菜幼苗相对电导率和丙二醛含量均低于对照处理。盐胁迫 4 d 时, SA 处理和对照处理小白菜的相对电导率差值达到最大; 在盐胁迫的 4 d 时, SA 处理和对照处理的小白菜丙二醛含量差值达到最大。总体而言, 在盐胁迫的过程中, SA 处理的小白菜相对电导率和丙二醛含量均低于对照处理, 表明喷施 SA 有利于缓解小白菜在盐胁迫下的膜质过氧化反应, 增强了小白菜的盐胁迫抗性。

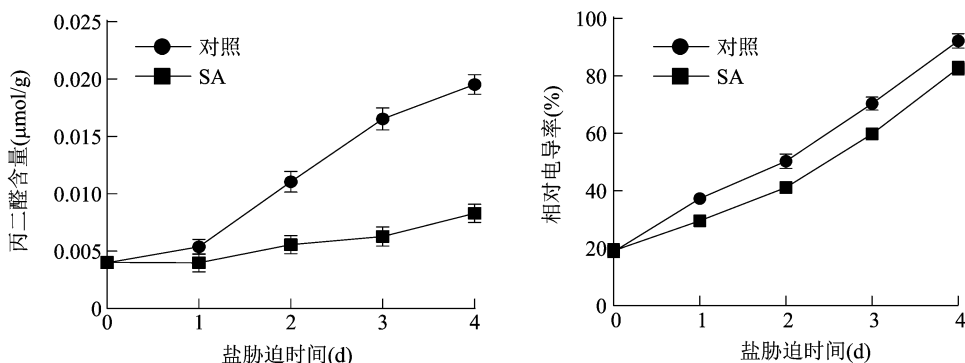


图2 SA对盐胁迫下小白菜幼苗相对电导率和丙二醛含量的影响

### 2.3 SA对盐胁迫下小白菜幼苗叶片光合作用的影响

叶绿素是光合作用重要的色素分子,决定着光合作用的效率。因此,叶绿素含量是体现植物抵抗非生物胁迫能力的重要指标<sup>[21-22]</sup>。由图3可知,随着盐胁迫时间的延长,小白菜幼苗叶片叶绿素含量明显下降,而SA预处理的小白菜叶幼苗绿素含量下降速度比对照更慢。在盐胁迫4 d时,SA处理小白菜和对照处理小白菜叶绿素含量差值最大。表明喷施SA有利于减缓盐胁迫下小白菜叶绿素的降解,提高光合作用效率,有助于增强小白菜的盐胁迫抗性。

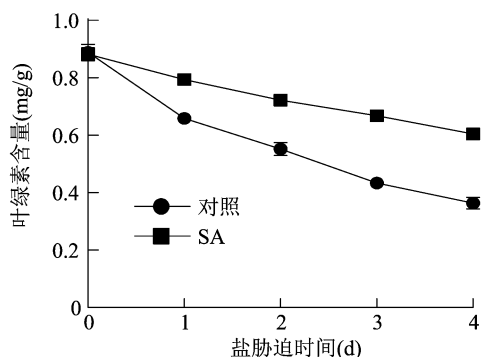


图3 SA对盐胁迫下小白菜幼苗叶绿素含量的影响

### 2.4 SA对盐胁迫下小白菜幼苗叶片渗透势的影响

可溶性糖、可溶性蛋白和脯氨酸是植物体内重要的渗透调节物质,可以降低细胞渗透压,减少失水,降低植株受到的胁迫伤害<sup>[20-21]</sup>。由图4可知,随着盐胁迫时间的延长,小白菜幼苗叶片可溶性糖、可溶性蛋白和脯氨酸3种渗透调节物质的含量均呈上升趋势。在盐胁迫的同一时间内,SA处理小白菜幼苗叶片的可溶性糖、可溶性蛋白和脯氨酸的含量均高于对照处理。盐胁迫刚开始时,SA和对照处理的小白菜幼苗渗透调节物质含量差异不明显,随着胁迫时间的延长,SA处理的小白菜幼苗叶片渗透调节物质明显高于对照处理。胁迫处理3 d时,SA处理和对照处理可溶性糖含量差达到最大。脯氨酸含量和可溶性蛋白含量均在胁迫的4 d时达到最大差值。结果表明,喷施SA可以提高盐胁迫下小白菜幼苗的渗透物质含量,有利于降低细胞的水势,减少小白菜失水,降低小白菜受到的盐胁迫伤害,增强了小白菜抵抗盐胁迫的能力。

### 2.5 SA对盐胁迫下小白菜幼苗抗氧化酶的影响

植物受到非生物胁迫时,体内会产生大量氧自由基,对植物体造成伤害。在长期进化过程中,植物体形成了具有清除活性氧自由基能力的抗氧化

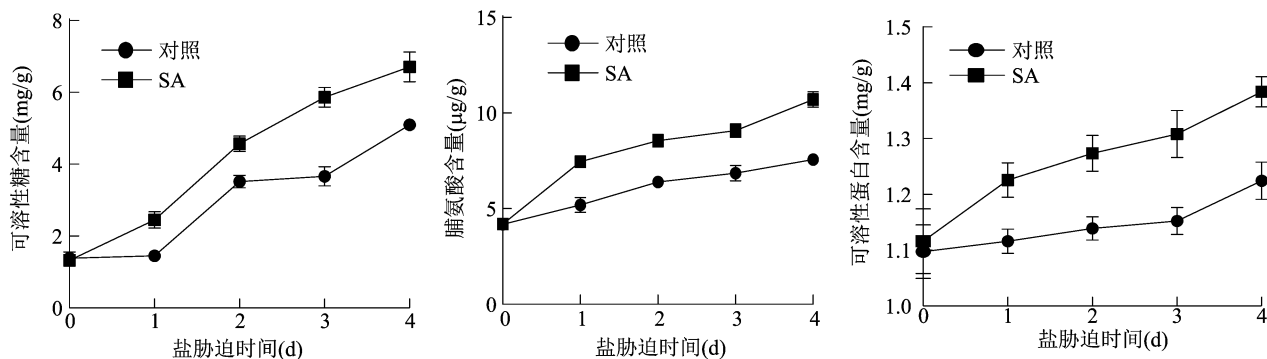


图4 SA对盐胁迫下小白菜幼苗叶片渗透调节物质含量的影响

防御体系,其中 SOD 和 POD 是重要的保护酶类<sup>[20]</sup>。由图 5 可知,随着盐胁迫时间的延长,SOD 和 POD 活性均呈先上升后下降的趋势,且均在盐胁迫 3 d 后开始下降。SA 处理和对照处理小白菜 SOD、POD

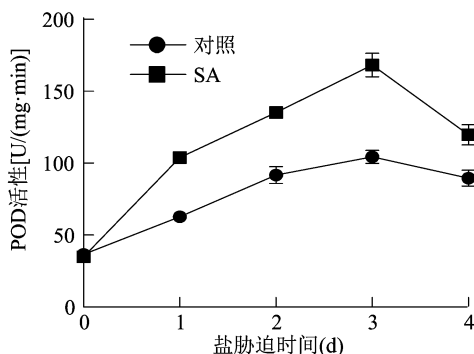
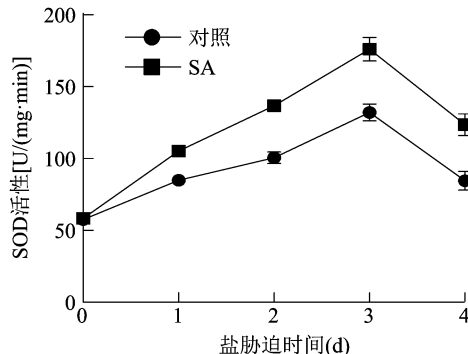


图5 SA 对盐胁迫下小白菜幼苗抗氧化酶类的影响

活性的最大差值均出现在胁迫 3 d 时。整个胁迫过程中,SA 处理的小白菜抗氧化酶活性均高于对照处理,表明喷施 SA 有利于保护盐胁迫下小白菜的抗氧化酶系统,增强了小白菜抵抗盐胁迫的能力。



## 2.6 SA 对盐胁迫下小白菜幼苗抗氧化酶基因表达的影响

为探究小白菜幼苗的耐盐机制,用实时荧光定量 PCR 研究 *POD* 和 *SOD* 基因在 NaCl 胁迫下的表达。由图 6 可知,NaCl 胁迫 1 d 以后,小白菜幼苗 *POD* 和 *SOD* 基因表达水平与对照相比均存在明显差异。其中,未进行 NaCl 处理时,*POD* 和 *SOD* 基因

有少量表达;在 NaCl 处理后,小白菜幼苗 *POD* 和 *SOD* 基因的相对表达水平均有不同程度的提高,*POD* 和 *SOD* 基因的表达量均在 NaCl 胁迫 3 d 时达到最高水平,与它们的酶活性变化具有一致的趋势。表明外源水杨酸通过上调盐胁迫下小白菜幼苗抗氧化酶基因的相对表达量来增强其抗氧化酶活性,进而增强了小白菜抵抗盐胁迫的能力。

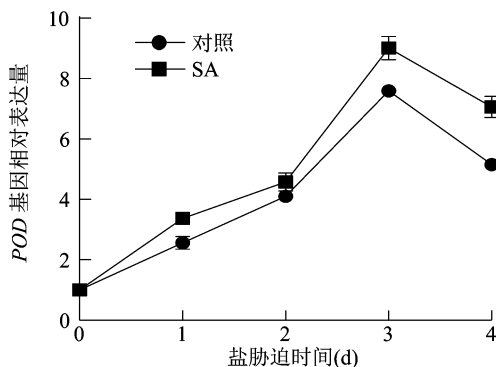
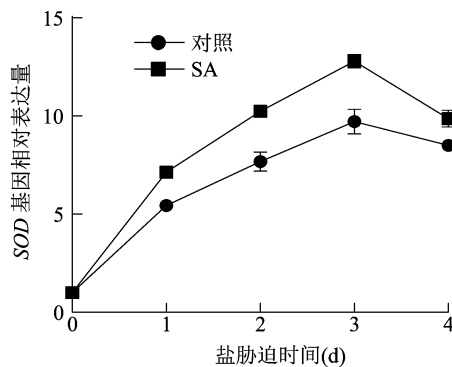


图6 SA 对盐胁迫下小白菜幼苗抗氧化酶基因相对表达的影响



## 3 结论与讨论

在植物体生长的不同时期,其盐胁迫抗性存在一定的差异,植物在苗期对盐胁迫更为敏感<sup>[23-24]</sup>,因此选取了苗期的小白菜进行试验。

当处于盐胁迫下时,植物体内的生理特性发生巨大的变化<sup>[25]</sup>。由于植物自身的抗逆机制,植物体内会迅速积累可溶性蛋白、可溶性糖、脯氨酸等渗透调节物质。当胁迫达到一定程度时,植物自身抗逆机制会受到不可逆转的伤害,进而导致植物体渗透调节物质含量的下降<sup>[26]</sup>。同时盐胁迫也会引起植物体内氧自由基的大量产生,其中 POD 和 SOD

等抗氧化酶组成的抗氧化酶系统可以清除植物体内的氧自由基<sup>[20]</sup>。本研究中没有盐胁迫时,SA 处理和对照处理的各项生理影响并没有明显差别,表明在正常的生长环境下,喷施 SA 对小白菜体内的生理生化反应并无明显影响,这与富春元等的研究结果<sup>[27]</sup>一致。盐胁迫对小白菜造成的伤害会通过某种信号传递的方式来影响小白菜的生理生化指标,而生理生化指标的变化会体现在这种信号传递完成之后。随着盐胁迫的进行,对照处理的小白菜 POD 和 SOD 指标先升高后降低,与杜世章等的研究结果<sup>[28]</sup>一致。表明在没有喷施 SA 的情况下,小白菜幼苗在面对盐胁迫时,自身也会有一种抗逆机

制,进而使抗氧化酶活性在一定范围内上升。当胁迫时间继续延长之后,这种抗逆机制会受到破坏,进而使抗氧化酶活性下降,甚至可能会低于正常生长的小白菜抗氧化酶活性,直至小白菜死亡。当盐胁迫时间足够久时,将会对小白菜本身的抗逆机制造成不可逆转的伤害,但具体机制有待进一步的考证与研究。

盐胁迫下小白菜幼苗相关抗氧化酶基因的相对表达量发生了变化。在没有使用 NaCl 处理之前,SOD 基因与 POD 基因仅有微量表达。在使用 NaCl 处理之后,2 种抗氧化酶基因的表达量均有不同程度的上调,且均在胁迫 3 d 时达到峰值,之后表达量均有下调。与代其林等关于豇豆在盐胁迫下抗氧化酶活性以及相关基因表达的研究结果<sup>[20]</sup>吻合。显然,这 2 种抗氧化酶基因都是诱导表达型基因,均存在过量表达的可能性。

#### 参考文献:

- [1] 史庆华,朱祝军,Khalidal - Aghabary K,等. 等渗盐胁迫对番茄抗氧化酶和 ATP 酶及焦磷酸酶活性的影响[J]. 植物生理与分子生物学学报,2004,30(3):311 - 316.
- [2] 付立东,王宇,隋鑫,等. 氮肥运筹对滨海盐碱地水稻生育及产量的影响[J]. 沈阳农业大学学报,2010,41(3):327 - 330.
- [3] Long X H,Zhao J,Liu Z P,et al. Applying geostatistics to determine the soil quality improvement by Jerusalem artichoke in coastal saline zone[J]. Ecological Engineering,2014,70(4):319 - 326.
- [4] Sairam R K,Vasanthan B,Arora A,et al. Calcium regulates Gladiolus flower senescence by influencing antioxidative enzymes activity[J]. Acta Physiologiae Plantarum,2011,33(5):1897 - 1904.
- [5] 孙彩霞,刘志刚,荆艳东. 水分胁迫对玉米叶片关键防御酶系活性及其同工酶的影响[J]. 玉米科学,2003,11(1):63 - 66.
- [6] Ennajeh M,Vadel A M,Khemira H,et al. Osmoregulation and osmoprotection in the leaf cells of two olive cultivars subjected to severe water deficit[J]. Acta Physiologiae Plantarum,2009,31(4):711 - 721.
- [7] 桑利敏. 甜菜幼苗对中性盐和碱性盐胁迫的生理应答特性[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2017.
- [8] 师晨娟,刘勇,荆涛. 植物激素抗逆性研究进展[J]. 世界林业研究,2006,19(5):21 - 26.
- [9] 刘拴成,曹兴明,穆俊祥,等. 外源激素对盐胁迫下番茄种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 种子,2016,35(12):94 - 98.
- [10] 李晓宇,穆春生. 盐碱胁迫及外源植物激素对小麦和羊草生长

- 发育的影响[J]. 草地学报,2017,25(2):257 - 260.
- [11] Malamy J,Carr J P,Klessig D F,et al. Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection[J]. Science,1990,250(4983):1002 - 1004.
- [12] Métraux J P,Signer H,Ryals J,et al. Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber[J]. Science,1990,250(4983):1004 - 1006.
- [13] Durner J,Shah J,Klessig D F. Salicylic acid and disease resistance in plants[J]. Trends in Plant Science,1997,2(7):266 - 274.
- [14] Delaney T P,Uknes S,Vernooij B,et al. A central role of salicylic Acid in plant disease resistance[J]. Science,1994,266(5188):1247 - 1250.
- [15] 徐国瑞,刘济明,闫国华,等. 罗甸小米核桃叶绿素含量测定方法研究[J]. 山地农业生物学报,2010,29(5):419 - 423.
- [16] 陈爱葵,韩瑞宏,李东洋,等. 植物叶片相对电导率测定方法比较研究[J]. 广东教育学院学报,2010,30(5):88 - 91.
- [17] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 2 版. 北京:高等教育出版社,2006.
- [18] 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.
- [19] 陈建勋,王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州:华南理工大学出版社,2006.
- [20] 代其林,王金玲,马明莉,等. NaCl 胁迫处理对豇豆幼苗抗氧化酶活性的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(10):193 - 196.
- [21] Hou Y D,Guo Z F,Yi Y,et al. Effects of cold acclimation and exogenous phytohormone abscisic acid treatment on physiological indicators of winterness wheat[J]. Journal of Plant Sciences,2010,5(2):125 - 136.
- [22] 王连荣,薛拥志,常美花,等. 外源激素对杏扁抗寒生理指标的影响[J]. 核农学报,2016,30(2):396 - 403.
- [23] 孙小芳,郑青松,刘友良. NaCl 胁迫对棉花种子萌发和幼苗生长的伤害[J]. 植物资源与环境学报,2000,9(3):22 - 25.
- [24] 沈禹颖,王锁民. 盐胁迫对牧草种子萌发及其恢复的影响[J]. 草业学报,1999,42(3):54 - 60.
- [25] Jini D,Joseph B. Physiological mechanism of salicylic acid for alleviation of salt stress in rice[J]. Rice Science,2017,24(2):97 - 108.
- [26] 付艳,高树仁,杨克军,等. 盐胁迫对玉米耐盐系与盐敏感系苗期几个生理生化指标的影响[J]. 植物生理学报,2011,47(5):459 - 462.
- [27] 富春元,张淑娟,鱼昭君,等. PEG 模拟干旱胁迫对叶缘裂刻小白菜生理特性的影响[J]. 西北农业学报,2014,23(5):139 - 145.
- [28] 杜世章,代其林,奉斌,等. 不同浓度 NaCl 胁迫处理下豇豆幼苗抗氧化酶活性的变化[J]. 基因组学与应用生物学,2011,30(3):351 - 356.