

# 盐胁迫和干旱胁迫对蓝花子种子萌发和幼苗生长的影响

范智勇, 王亭亭, 柴 靛, 王健美

(四川大学 生命科学院, 生物资源与生态环境教育部重点实验室, 四川 成都 610064)

**摘 要:**将蓝花子培养在含有不同浓度的 NaCl 和甘露醇的 MS 培养基上, 研究蓝花子在不同浓度的 NaCl 和甘露醇处理下的发芽势、发芽率、相对发芽率、叶绿素含量以及过氧化物酶活性等, 揭示蓝花子对盐胁迫和干旱胁迫的耐受能力。结果表明: 蓝花子的发芽率、株高、根长、叶绿素以及过氧化物酶活性都随 NaCl 浓度的升高而显著下降; 在甘露醇胁迫时, 蓝花子幼苗的根长、叶绿素含量以及 POD 酶活性都随甘露醇浓度的升高表现为先升高后降低的趋势。说明同十字花科其它植物相比蓝花子对盐胁迫十分敏感, 而对干旱胁迫却能表现出比较明显的耐受性。

**关键词:**蓝花子; NaCl 胁迫; 甘露醇胁迫; 发芽率; 叶绿素; 过氧化物酶活

**中图分类号:**S 565.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)02-0007-04

目前, 土地盐渍化和干旱问题日益突出, 我国盐渍土地面积大, 分布广, 为世界之最<sup>[1]</sup>。同时, 全世界近 100 个国家的 10 亿人口受到越来越严重的沙漠化威胁, 1.35 亿人口将可能失去赖以生存的土地<sup>[2]</sup>。目前, 随着土地盐渍化和干旱的加剧, 盐渍和干旱对植物生长和生理特征的研究也在不断深入, 十字花科的其它植物如油菜、拟南芥等在 NaCl 胁迫条件下的发芽率、根长、株高、叶绿素以及抗氧化酶活性随盐浓度的变化已经有所研究<sup>[3-4]</sup>; 杨春杰<sup>[6]</sup>, 刘海龙<sup>[7]</sup>等研究了油菜和拟南芥等在干旱胁迫下的生长和生理变化, 但是目前对蓝花子的耐盐和耐干旱方面的相关研究鲜见报道。

蓝花子是十字花科萝卜属的一个变种(*Raphanus sativus* L. var. *raphanistroides* Makino), 为 1 a 或 2 a 生植物, 是中国西南山区的主要油料作物之一。蓝花子有很重要的应用价值, 它可以作为油料作物, 而且还具有肥料价值和饲料价值。同时, 蓝花子也是良好的蜜源植物。由于蓝花子具有耐旱、耐寒、耐瘠薄、耐酸碱的良好生物学特性, 所以蓝花子在我国从东南沿海至西南边境, 从海南岛至内蒙古、黑龙江, 从海拔数米至 3 500 m 均能种植<sup>[8]</sup>。但是, 目前在可控条件下模拟逆境条件对蓝花子进行盐胁迫和干旱胁迫的研究较少。现通过对蓝花子在盐胁迫和干旱胁迫条件下种子萌发、幼苗生长

以及生理变化的研究, 为蓝花子育种、栽培以及抗逆研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

蓝花子种子为四川大学生命科学学院实验室保存的材料。

### 1.2 试验方法

选择饱满的种子, 用 75% 的乙醇浸泡 30 s, 0.1% 的升汞浸泡 10 min, 再用无菌的蒸馏水清洗 4~5 次。分别取 100 粒种子播种在含有 0、100、150、200、250、300 mmol/L NaCl 和含有 0、100、200、300、400、500、600 mmol/L 甘露醇的 MS 固体培养基上, 28℃, 昼夜各 12 h 条件下培养。每个浓度 3 次重复。每天观察并记录蓝花子种子的萌发情况, 在播种后的第 3 天计算种子的发芽势, 第 5 天计算种子的发芽率和相对发芽率, 第 7 天测定幼苗的株高和根长, 第 9 天测定幼苗的叶绿素含量和 POD 酶活性。

### 1.3 相关指标和酶活测定方法

发芽势、发芽率、相对发芽率的计算见参考文献<sup>[9]</sup>; 叶绿素含量的测定采用 DMF 法<sup>[10]</sup>。POD 酶活性用南京建成生物工程研究所购买的考马斯亮蓝试剂盒和 POD 酶活试剂盒进行测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 NaCl 和甘露醇对蓝花子种子萌发的影响

随着 NaCl 和甘露醇浓度升高, 蓝花子发芽势和发芽率呈明显的下降趋势, 这些胁迫对蓝花子种子萌发的影响主要表现在萌发的前 3 d, NaCl 和甘露醇胁迫抑制了种子的吸胀吸水、呼吸作用相关酶的活化以及胚细胞

**第一作者简介:**范智勇(1987-), 男, 在读硕士, 现主要从事植物遗传和分子生物学研究工作。E-mail: S091622@163.com。

**通讯作者:**王健美(1970-), 女, 博士, 副教授, 现从事植物遗传与分子生物学研究工作。E-mail: wangjianmei@scu.edu.cn。

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(30871322)。

**收稿日期:**2010-11-17

的分裂过程。由图 1 可知, NaCl 浓度为 100 mmol/L 时, 蓝花子的发芽势为 59%; 当 NaCl 的浓度达到 150 mmol/L 时蓝花子的发芽势急剧下降, 只有 5%; NaCl 浓度为 100 mmol/L 时, 蓝花子的发芽率和相对发芽率分别为 73% 和 76%; 而当 NaCl 的浓度达到 200 mmol/L 时, 蓝花子的发芽率和相对发芽率急剧下降, 只有 17% 和 17.7%; 当 NaCl 的浓度达到 300 mmol/L 时, 蓝花子种子萌发受到完全抑制, 发芽率和相对发芽率都为 0。由图 2 可知, 在甘露醇浓度为 200 mmol/L 时, 蓝花子的发芽势、发芽率和相对发芽率都大幅度下降, 分别为 42%、63% 和 65%; 当甘露醇的浓度达到 400 mmol/L 时, 蓝花子的发芽势变为 0; 当甘露醇的浓度达到 600 mmol/L 时, 蓝花子的发芽率和相对发芽率均为 0。

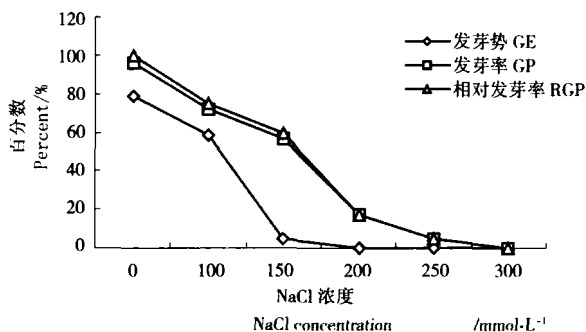


图 1 不同 NaCl 浓度对蓝花子萌发的影响

Fig. 1 Effects of different NaCl concentration stress on the seed germination of *Raphanus sativus* L. var. *raphanistroides* Makino

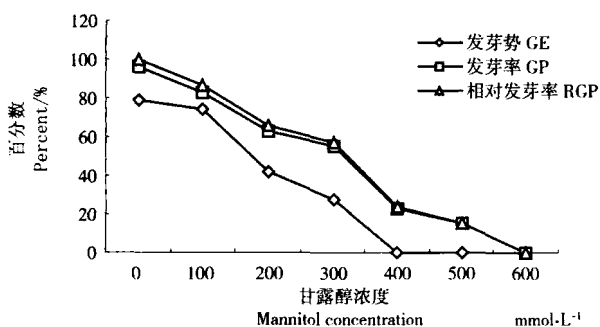


图 2 不同甘露醇浓度对蓝花子萌发的影响

Fig. 2 Effects of different mannitol concentration stress on the seed germination of *Raphanus sativus* L. var. *raphanistroides* Makino

## 2.2 NaCl 和甘露醇对蓝花子幼苗生长的影响

随着 NaCl 浓度的增加, 蓝花子幼苗生长受到严重抑制, 表现为幼苗高度和根长都急剧减小, 幼苗的形态畸形; 而甘露醇对蓝花子幼苗生长的影响较为温和, 随着甘露醇浓度的增加, 幼苗高度逐渐下降, 而甘露醇浓度相对较低时, 幼苗根长有增加趋势, 但是高浓度甘露醇胁迫时, 幼苗生长也受到了严重抑制。由图 3 可知, 当 NaCl 的浓度达到 200 mmol/L 时, 蓝花子的株高和根长都急剧变短, 当 NaCl 的浓度达到 300 mmol/L 的时候蓝花子只能萌发而不能生长。由图 4 可知, 随甘露醇浓

度的升高, 蓝花子的株高逐渐降低, 当甘露醇的浓度达到 500 mmol/L 时, 蓝花子只能萌发不能生长。但是, 甘露醇浓度在 300 mmol/L 以下时, 蓝花子的根长随甘露醇浓度的增大而增加; 而当甘露醇的浓度高于 300 mmol/L 时, 蓝花子的根长急剧变短。该研究表明, 蓝花子种子和幼苗对盐胁迫非常敏感, 但是, 蓝花子对于干旱胁迫具有一定的耐性, 其通过增加根长来吸收适应胁迫环境。

## 2.3 NaCl 和甘露醇对蓝花子幼苗叶绿素含量的影响

NaCl 和甘露醇对蓝花子幼苗叶绿素含量的影响与二者对幼苗生长的影响是一致的, 随着 NaCl 浓度的增加, 对幼苗叶绿素的破坏急剧加强, 而甘露醇胁迫在相对较低浓度时, 幼苗叶绿素含量先扬后抑。由图 5 可看出, 随盐浓度的升高, 蓝花子幼苗叶绿素的含量逐渐减少。NaCl 浓度在 100 mmol/L 的时候, 对幼苗叶绿素的影响不是很明显, 但是当 NaCl 的浓度达到 150 mmol/L 的时候, 幼苗的叶绿素含量大幅度降低。从图 6 可以看出, 甘露醇浓度在 200 mmol/L 以内的时候, 随甘露醇浓度的升高, 幼苗的叶绿素含量有所增加, 但当甘露醇的浓度高于 200 mmol/L 的时候, 幼苗的叶绿素含量随甘露醇浓度的升高而降低。说明蓝花子在较低的干旱胁迫时可以通过提高叶绿素的含量来维持生长。

## 2.4 NaCl 和甘露醇对蓝花子幼苗 POD 酶活的影响

NaCl 和甘露醇对蓝花子 POD 酶活的影响与二者对幼苗叶绿素含量的影响一致, 随着 NaCl 浓度的增加, 对幼苗叶绿素的破坏急剧加强, 而甘露醇胁迫在相对较低浓度时, 幼苗叶绿素含量先扬后抑。由图 7、8 可看出, 蓝花子体内 POD 的活性随着 NaCl 浓度的升高而降低, 但用甘露醇处理时 POD 活性表现为在 200 mmol/L 以内的时候呈上升趋势, 在 200 mmol/L 以上的时候 POD 酶活开始下降。说明蓝花子体内 POD 对盐比较敏感, 低浓度的盐就能使 POD 的活性降低, 但是蓝花子体内 POD 活性对浓度小于 200 mmol/L 的甘露醇有一定生理应答, 可以通过 POD 酶活的增加来降低干旱胁迫造成的氧化损伤。

## 3 结论与讨论

该试验结果表明, 蓝花子的发芽势、发芽率和相对萌发率随着 NaCl 和甘露醇浓度的升高而降低。这与前人对十字花科植物油菜<sup>[3]</sup>和拟南芥<sup>[7]</sup>的研究结果一致, 都表现为随 NaCl 和甘露醇浓度升高发芽率降低。这可能是由于 NaCl 和甘露醇都能导致外环境的高渗透压引起种子吸水不足<sup>[11]</sup>, 或是因为影响了呼吸作用相关酶的活化以及胚细胞的分裂过程引起的。

金美方<sup>[4]</sup>和杨春杰<sup>[6]</sup>的研究结果表明, 油菜在遇到干旱胁迫时株高和根长都随 PEG-6000 浓度的升高而变短, 拟南芥在遇到盐胁迫时株高和根长也都随 NaCl 浓度的升高而变短。该试验中蓝花子遇到盐胁迫时表现

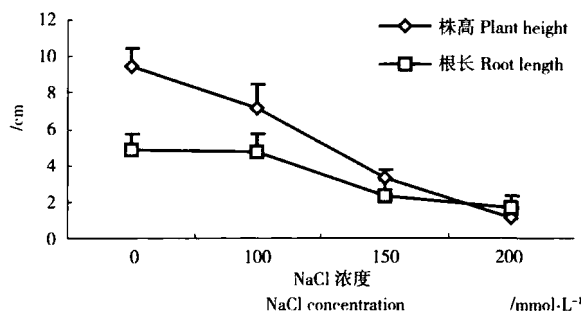
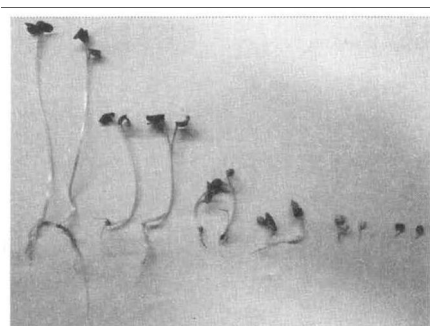


图3 不同 NaCl 浓度对蓝花子幼苗生长的影响

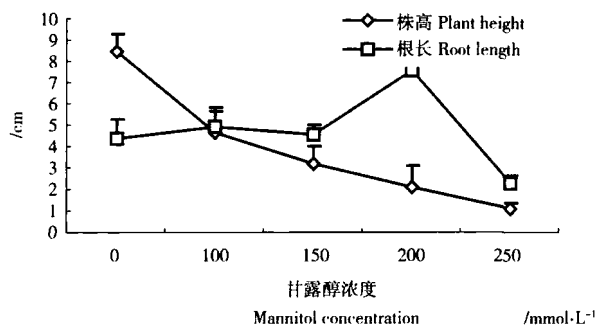
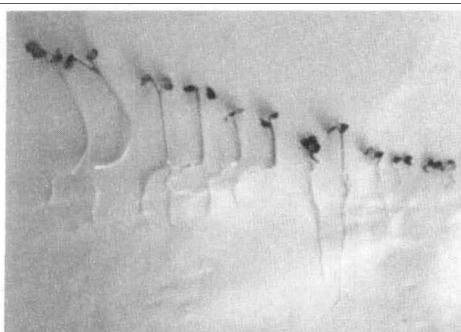
Fig.3 Effects of different NaCl concentration stress on the seedling growth of *Raphanus sativus* L. var. *raphanistroides* Makino

图4 不同甘露醇浓度对蓝花子幼苗生长的影响

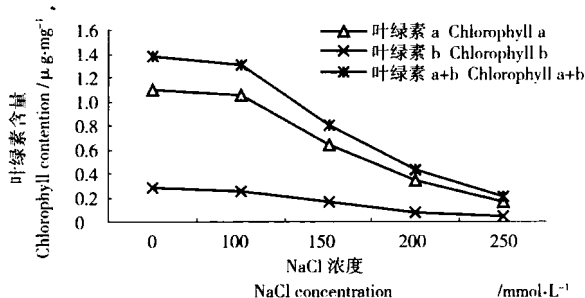
Fig.4 Effects of different mannitol concentration stress on the seedling growth of *Raphanus sativus* L. var. *raphanistroides* Makino

图5 不同 NaCl 浓度对蓝花子幼苗叶绿素含量的影响

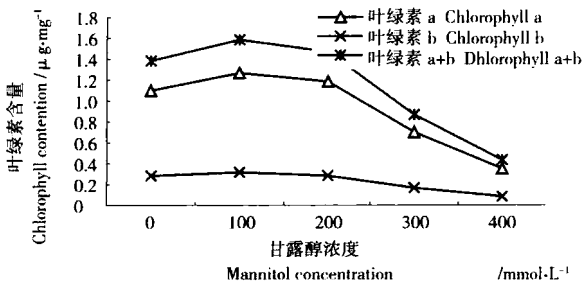
Fig.5 Effects of different NaCl concentration stress on the chlorophyll content of *Raphanus sativus* L. var. *raphanistroides* Makino

图6 不同甘露醇浓度对蓝花子幼苗叶绿素含量的影响

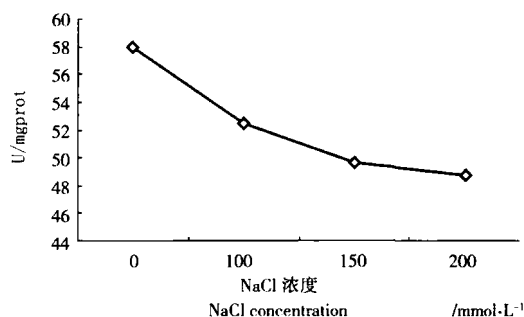
Fig.6 Effects of different mannitol concentration stress on the chlorophyll content of *Raphanus sativus* L. var. *raphanistroides* Makino

图7 不同 NaCl 浓度对蓝花子体内 POD 酶活性的影响

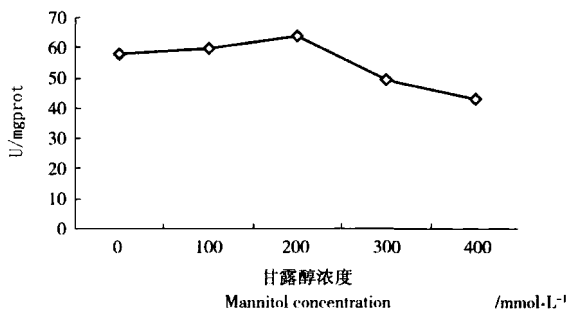
Fig.7 Effects of different NaCl concentration stress on the POD activity of *Raphanus sativus* L. var. *raphanistroides* Makino

图8 不同甘露醇浓度对蓝花子体内 POD 酶活性的影响

Fig.8 Effects of different mannitol concentration stress on the POD activity of *Raphanus sativus* L. var. *raphanistroides* Makino

出与拟南芥相似的表型。蓝花子遇到甘露醇胁迫却表现出与油菜不同的表型,主要表现为 300 mmol/L 甘露醇浓度范围内,蓝花子的根长随甘露醇浓度的升高而增长,说明蓝花子与十字花科的其它植物相比对盐更为敏感而对干旱却有较高的耐受性。说明在植物的形态方面,蓝花子对盐的耐受性与十字花科的其它植物相似,但是对干旱的耐受性却要好于其它植物。

叶绿素是光合作用的关键色素,它直接反映光合效率及植物同化能力的大小<sup>[12]</sup>。有研究表明,受盐分影响最敏感的是叶绿素<sup>[13]</sup>。该试验中蓝花子幼苗的叶绿素含量随 NaCl 浓度的升高而下降。这与前人对油菜<sup>[4]</sup>叶绿素随 NaCl 浓度的变化基本一致,只是油菜在 NaCl 150 mmol/L 以下的时候叶绿素随 NaCl 浓度的升高先略升高后迅速降低,说明蓝花子与同一个科的油菜相比对盐更为敏感。但甘露醇浓度在 200 mmol/L 范围内,蓝花子幼苗的叶绿素含量随甘露醇浓度的升高而升高。在走势图中形成 1 个小波峰,叶绿素的升高是对干旱胁迫的一种生理适应,通过光合作用来增加蓝花子的生物量,减少干旱造成的损伤。说明在叶绿素系统方面,蓝花子对盐的耐受性要比十字花科的其它植物差些,但对干旱胁迫有较高的耐受性。

在植物的抗氧化系统防御中,POD 等抗氧化酶起着重要的作用。POD 能除去 CAT 反应生成的  $H_2O_2$ 。代其林<sup>[14]</sup>在对油菜 NaCl 胁迫的研究中发现,200 mmol/L 的 NaCl 处理后油菜体内 POD 含量先升高后降低,说明植物在受到氧化损伤时能通过提高抗氧化酶的含量来维持植物的正常生长。试验中蓝花子在 200 mmol/L 以下浓度的甘露醇胁迫时,能通过提高 POD 的酶活性来降低胁迫造成的氧化损伤,但是 NaCl 胁迫时蓝花子的抗氧化机制却起不到明显的作用。说明在抗氧化系统方面,蓝花子对盐的耐受性要比十字花科的其它植物差些,但对干旱胁迫有较高的耐受性。

综上所述,NaCl 和甘露醇胁迫对蓝花子种子萌发有抑制作用,对蓝花子的生长也有显著的影响。试验从蓝花子的形态、叶绿素和氧化系统 3 个方面都证明蓝花子对盐的耐受性要比十字花科的其它植物差些,但是比十字花科的其它植物更具有干旱耐受性。

### 参考文献

- [1] 俞仁培. 对盐渍土资源开发利用的思考[J]. 土壤通报, 2001, 32(专增): 138-140.
- [2] 宋宗亿. 我国荒漠化防治如何走出困境[J]. 科技导报, 1999(10): 30-33.
- [3] 赵燕, 张复茵, 王巨媛, 等. NaCl 胁迫对油菜种子萌发特性的影响[J]. 北方园艺, 2010(9): 29-31.
- [4] 金美芳, 朱晓清. NaCl 胁迫对油菜种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 种子, 2009(9): 76-79.
- [5] 赵听, 吴雨霞, 赵敏桂, 等. NaCl 胁迫对盐芥和拟南芥光合作用的影响[J]. 植物学通报, 2007, 24(2): 154-160.
- [6] 杨春杰, 张学昆, 邹崇顺, 等. PEG-6000 模拟干旱胁迫对不同甘蓝型油菜品种萌发和幼苗生长的影响[J]. 中国油料作物学报, 2007, 29(4): 425-430.
- [7] 刘海龙, 杜鹏, 吴立柱, 等. 拟南芥种子萌发及幼苗生长对干旱和 NaCl 胁迫的响应[J]. 河北农业大学学报, 2008, 31(2): 11-15.
- [8] 王幼平, 李旭峰. 蓝花子资源的综合利用[J]. 中国野生植物资源, 1994(2): 28-30.
- [9] 张匀, 栾雨石. 番茄耐盐育种研究进展[J]. 西北农业学报, 2006, 15(3): 128-133.
- [10] Robert J. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b[J]. Photosynthesis Research, 2002, 73: 149-156.
- [11] 谢德意, 王惠萍. 盐胁迫对棉花种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 种子, 2000, 19(3): 29-30.
- [12] 邹树乾, 刘国道, 张绪元, 等. NaCl 胁迫对刚果臂形草种子萌发及幼苗生理效应的研究[J]. 中国草地, 2004, 26(6): 46-50.
- [13] 李际红, 张友鹏, 刘国兴, 等. 3 个杨树新无性系耐盐力测定初报[J]. 山东林业科技, 2001(1): 10-13.
- [14] 代其林, 奉斌, 刘婷婷, 等. 甘蓝型油菜幼苗对 NaCl 胁迫的抗氧化应答[J]. 基因组学与应用生物学, 2009, 28(4): 725-729.

## Effects of NaCl and Mannitol Stress on the Seed Germination and Seedling Growth of

### *Raphanus sativus* L. var. *raphanistroides* Makino

FAN Zhi-yong, WANG Ting-ting, CHAI Liang, WANG Jian-mei

(Key Laboratory of Biological Resources and Ecological Environment of Ministry of Education, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610064)

**Abstract:** The seeds of *Raphanus sativus* L. var. *raphanistroides* Makino were cultured on MS medium containing different concentrations of NaCl and mannitol. After measuring the physiological and biochemical characters such as germination potential, germination rate, relative germination rate, chlorophyll content and POD activity, it was found that the *Raphanus sativus* L. var. *raphanistroides* Makino germination rate, plant height, root length, chlorophyll content and POD activity gradually decreased with the increasing of NaCl concentration. But with the increasing of mannitol concentration, the seeds showed longer root length, higher chlorophyll content and POD activity at lower mannitol concentration, but when the concentration of mannitol increased further, these physiological and biochemical characters declined again. It seemed that the *Raphanus sativus* L. var. *raphanistroides* Makino was more tolerant to drought stress than other species of cruciferae.

**Key words:** *Raphanus sativus* L. var. *raphanistroides* Makino; NaCl stress; mannitol stress; germination rate; chlorophyll; peroxidase activity