

# 盐胁迫对草莓抗氧化系统和离子吸收的影响

颜志明, 魏跃, 贾思振, 董慧, 嵇怡

(江苏农林职业技术学院, 江苏 句容 212400)

**摘要:**以“红颜”草莓为试材,采用营养液水培法,研究了盐胁迫对草莓叶片抗氧化系统和离子吸收的影响。结果表明:与对照相比,盐胁迫初期,草莓叶片内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性呈现先上升趋势,6 h 达到最大,随后呈现下降趋势;同时草莓叶片超氧阴离子( $O_2^{\cdot-}$ )产生速率加快;过氧化氢( $H_2O_2$ )含量、丙二醛(MDA)含量和质膜透性均提高,且随胁迫时间延长,增加幅度变大。盐胁迫明显地提高了草莓根、茎和叶片中的  $Na^+$  含量,降低了  $K^+$  和  $Ca^{2+}$  含量,说明盐胁迫抑制了  $K^+$  和  $Ca^{2+}$  的吸收;盐胁迫均降低了草莓根、茎和叶片中  $K^+/Na^+$  和  $Ca^{2+}/Na^+$ 。综上结果表明,在盐胁迫初期,植物可通过提高其体内抗氧化酶活性来提高草莓抗性,随胁迫时间延长,植物体内抗氧化系统遭到破坏;同时,盐胁迫也抑制了草莓对矿质营养离子的吸收,破坏了植物体内离子平衡。

**关键词:**草莓;盐胁迫;抗氧化系统;离子吸收

**中图分类号:**S 668.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)09-0001-04

盐胁迫已成为影响全球作物减产的最主要非生物因素<sup>[1-2]</sup>。许多研究表明,盐胁迫能够增加活性氧(ROS)如过氧化氢( $H_2O_2$ )、超氧阴离子( $O_2^{\cdot-}$ )等的产生,植物体在缺乏足够保护机制的情况下,ROS 通过氧化脂质细胞膜、蛋白质和核酸等对植物的正常代谢产生严重的破坏<sup>[3-5]</sup>。在盐胁迫环境下,大量  $Na^+$  涌入胞内,破坏了细胞中  $Na^+$ 、 $Cl^-$  的平衡,影响植物对  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$  等离子的吸收和在植物体内的分布,抑制植株生长<sup>[6]</sup>。草莓是盐敏感植物,生产上多以塑料大棚、日光温室等保护设施进行促成栽培,由于生产环境相对封闭,加之不合理的施肥等因素,容易造成土壤次生盐渍化,影响草莓的生长<sup>[7-8]</sup>。现以“红颜”草莓为材料,研究了盐胁迫处理对草莓抗氧化系统和离子吸收的影响,以期为进一步深入研究盐胁迫对草莓伤害的生理机制提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以“红颜”草莓(*Fragaria ananassa* Duch.)为试材,采用匍匐茎 1 a 生草莓苗,定植于装有 25 L 1 倍山崎草莓营养液的水培槽中进行培养。试验期间用通气泵间

歇通气,保持营养液中溶解氧含量为  $(8.0 \pm 0.2)$  mg/L。室内空气最高温度为 30℃,最低温度为 17℃,相对湿度在 70% 左右。预培养 15 d 后备用。

### 1.2 试验方法

试验于 2012 年 9~10 月在江苏省农林科技示范园内进行,以前期培养草莓苗为试材,用正常营养液培养为对照(CK),在另外水培槽中加入分析纯 NaCl,使其浓度达 100 mmol/L,作为盐胁迫处理(NaCl)。处理后 0、3、6、9、12、24、48 h 取植株同一叶位叶片进行抗氧化系统指标测定;处理后 72 h 测定离子含量,每处理 3 次重复。

### 1.3 项目测定

**1.3.1  $O_2^{\cdot-}$  产生速率、质膜相对透性、 $H_2O_2$  和 MDA 含量测定** 超氧阴离子产生速率测定参照 Elstner 等<sup>[9]</sup>方法;过氧化氢含量测定参照 Patterson 等<sup>[10]</sup>方法;丙二醛含量测定参照 Heath 等<sup>[11]</sup>方法;质膜相对透性测定参照 Gong 等<sup>[12]</sup>方法。

**1.3.2 SOD、POD 和 CAT 活性的测定** 取 0.5 g 草莓叶片,用 8 mL 预冷的 50 mmol/L pH 7.8 磷酸缓冲液研磨匀浆,在 4℃、15 000 r/min 下离心 20 min。取上清液用于酶活性的测定;SOD 活性测定参照 Giannopolitis 等<sup>[13]</sup>方法;取酶液 0.05 mL,加 3.0 mL 反应液(50 mmol/L 的 PBS-Na(pH 7.8)中含 15 mmol/L 甲硫氨酸,2.25 mmol/L NBT,60  $\mu$ mol/L 核黄素,30 mmol/L EDTA)摇匀。在 25℃、4 000 lx 下照光 15 min 后,黑暗下终止反应,旋即在 560 nm 波长处测定吸光值,缓冲液

**第一作者简介:**颜志明(1977-),男,江苏滨海人,博士,讲师,现主要从事设施蔬菜栽培生理等研究工作。E-mail: yanzhming@sohu.com.

**基金项目:**江苏省农业三新工程资助项目(SXGC(2012)373);“青蓝工程”资助项目。

**收稿日期:**2013-01-16

作为空白对照。酶活性采用抑制 NBT 光化学反应 50% 为 1 个酶活性单位(U)表示。酶活性以 U/mg(protein) 表示。POD 和 CAT 活性测定参照 Chance 等<sup>[14]</sup>方法;蛋白质含量测定参照 Bradford<sup>[15]</sup>考马斯亮蓝 G-250 法。

1.3.3  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$  和  $Na^+$  含量的测定 草莓植株先用自来水冲洗 2~3 次,再用蒸馏水冲洗干净并吸干水分,把幼苗分为根、茎和叶 3 部分,烘箱中 105℃ 下杀青 15 min,于 75℃ 下烘干至恒重;磨碎过 30 目筛。 $K^+$ 、 $Ca^{2+}$  和  $Na^+$  的提取参照王宝山等<sup>[16]</sup>的方法:准确称取烘干样品 50 mg 于大试管中,加 20 mL 蒸馏水摇匀,沸水浴 2 h,冷却后过滤于 50 mL 容量瓶中。 $Na^+$ 、 $K^+$  和  $Ca^{2+}$  含量用 TAS-986 原子吸收分光光度计测定(北京普析通用仪器有限责任公司)。

#### 1.4 数据分析

试验结果均采用 SAS 软件 Duncan's 多重比较法

( $P < 0.05$ ) 进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 盐胁迫对草莓叶片 $O_2^-$ 产生速率和 $H_2O_2$ 含量的影响

由图 1 可知,盐胁迫条件下,“红颜”草莓叶片  $O_2^-$  产生速率在处理 0~3 h 内呈缓慢增长趋势,处理后 3~6 h 内产生速率加快,处理后 6~12 h 内呈缓慢下降的趋势,但下降幅度不明显,处理后 12 h 后增长速度加快。与对照相比,盐处理的草莓叶片  $O_2^-$  产生速率均显著高于对照。

盐胁迫条件下,草莓叶片  $H_2O_2$  含量随胁迫时间的延长而呈现逐渐上升趋势,其中以处理后 6 h 上升较为明显。与对照相比,盐胁迫处理草莓叶片  $H_2O_2$  含量均高于对照,表明草莓叶片受到了伤害。

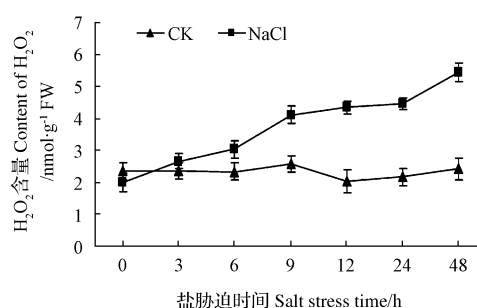
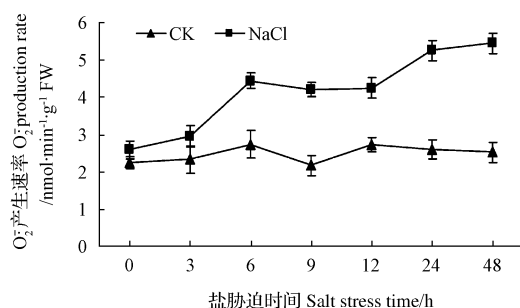
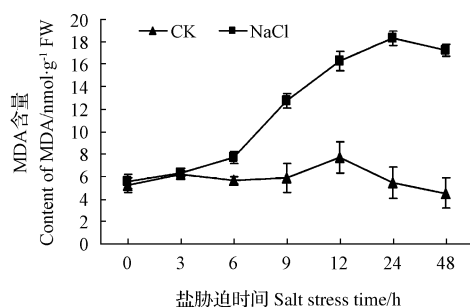


图 1 盐胁迫对草莓叶片  $O_2^-$  产生速率和  $H_2O_2$  含量的影响

Fig. 1 Effect of salt stress on  $O_2^-$  production rate and  $H_2O_2$  content of strawberry leaves

### 2.2 盐胁迫对草莓叶片 MDA 含量和质膜相对透性的影响

由图 2 可知,盐胁迫下,草莓叶片中 MDA 含量和质膜相对透性显著高于对照。其中,盐处理后 0~6 h,草莓叶片 MDA 含量增长缓慢,盐处理 6 h 后,草莓叶片 MDA 含量呈急剧增长趋势;盐胁迫下,草莓叶片质膜相对透性变化趋势与 MDA 含量变化相类似,在盐处理 0~9 h 内呈缓慢上升趋势,在 9~24 h 内上升幅度加大。



### 2.3 盐胁迫对草莓叶片 SOD、POD、CAT 活性的影响

由图 3 可知,3 种酶活性变化相似,均呈现先上升后下降的趋势,SOD、POD 和 CAT 酶活性均在处理 6 h 后达到最大,分别比对照高 18.4%、82.01% 和 328.35%,随后呈现下降趋势。与 CAT 和 POD 酶活性变化相比,SOD 酶变化幅度相对较小,SOD 酶活性在处理 24 h 后低于对照,POD 和 CAT 酶活性在处理 12 h 后均低于对照。

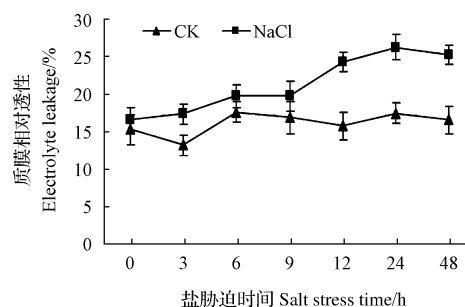


图 2 盐胁迫对草莓叶片 MDA 含量和质膜相对透性的影响

Fig. 2 Effect of salt stress on MDA content and electrolyte leakage of strawberry leaves

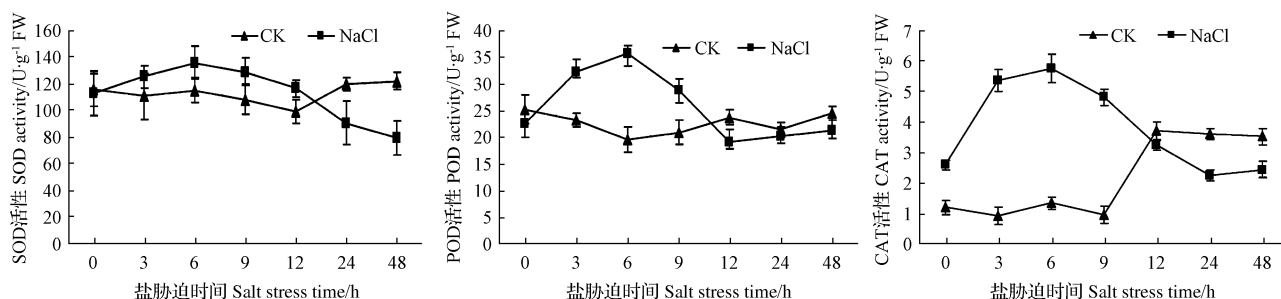


图3 盐胁迫对草莓叶片 SOD、POD、CAT 活性的影响

Fig. 3 Effect of salt stress on SOD, POD and CAT activities of strawberry leaves

#### 2.4 盐胁迫对草莓 $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 和 $Na^+$ 含量的影响

由表1可知,盐胁迫处理降低了草莓根、茎、叶中  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$  含量,与对照相比,根中分别降低了 32.28% 和 18.16%,茎为 44.56% 和 16.24%,叶为 41.28% 和 19.96%,说明,盐胁迫严重影响了草莓对  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$  的吸收。盐胁迫明显增加了草莓根、茎、叶中  $Na^+$  含量,与对照相比,根、茎和叶中分别提高了 357.11%、483.9% 和 675.46%,表明在盐胁迫环境下,  $Na^+$  大量进入到草莓根部,并运输到草莓的茎和叶片当中。

表1 盐胁迫对草莓  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$  和  $Na^+$  含量的影响Table 1 Effect of salt stress on  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  and  $Na^+$  contents of strawberry leaves mg/g

处理 Treatments	根 Roots			茎 Stems			叶 Leaves		
	$K^+$	$Ca^{2+}$	$Na^+$	$K^+$	$Ca^{2+}$	$Na^+$	$K^+$	$Ca^{2+}$	$Na^+$
CK	15.24	5.23	4.64	25.76	7.45	3.79	20.98	10.42	2.16
NaCl	10.32	4.28	21.21	14.28	6.24	22.13	12.32	8.34	16.75

#### 2.5 盐胁迫对草莓 $K^+/Na^+$ 和 $Ca^{2+}/Na^+$ 的影响

由表2可知,正常培养条件下,  $K^+/Na^+$  和  $Ca^{2+}/Na^+$  的比值呈现叶>茎>根,叶片中最大;与对照相比,盐胁迫下,草莓根、茎、叶中  $K^+/Na^+$  分别下降了 85.06%、90.44% 和 92.43%,根、茎、叶中  $Ca^{2+}/Na^+$  分别下降了 82.30%、85.66% 和 89.68%。

表2 盐胁迫对草莓  $K^+/Na^+$  和  $Ca^{2+}/Na^+$  的影响Table 2 Effect of salt stress on  $K^+/Na^+$  and  $Ca^{2+}/Na^+$  of strawberry leaves

处理 Treatments	根 Roots		茎 Stems		叶 Leaves	
	$K^+/Na^+$	$Ca^{2+}/Na^+$	$K^+/Na^+$	$Ca^{2+}/Na^+$	$K^+/Na^+$	$Ca^{2+}/Na^+$
CK	3.28	1.13	6.80	1.97	9.71	4.82
NaCl	0.49	0.20	0.65	0.28	0.74	0.49

### 3 讨论与结论

盐胁迫可以影响植物各种代谢过程,导致植物超氧阴离子自由基( $O_2^{\cdot-}$ )、过氧化氢( $H_2O_2$ )、羟自由基( $\cdot OH$ )和单线态氧( $^1O_2$ )等活性氧(ROS)物质的过量生成<sup>[17]</sup>,活性氧自由基通过对蛋白质、核酸和脂质的氧化伤害而破坏植物的正常代谢<sup>[18]</sup>。植物可以利用 SOD、CAT 等抗氧化酶和非酶(如抗坏血酸等)的抗氧化物质

协同作用,防御或减轻活性氧对细胞膜系统的伤害,缓解膜脂过氧化,进而减轻盐胁迫对植物细胞的伤害<sup>[19]</sup>。该研究结果表明,盐胁迫初期,草莓体内 SOD、POD 和 CAT 酶活性均发生了明显的增加,胁迫 6 h 后,酶活性呈现下降趋势,最终低于对照,这与草莓  $O_2^{\cdot-}$  产生速率和  $H_2O_2$  含量的变化趋势是一致的,由此表明,在胁迫初期,植物可以通过调节植物体内酶活性来清除过多的活性氧,减轻对植物的伤害,随着胁迫时间的延长,植物体内酶系统遭到破坏,清除活性氧能力减弱,植物伤害加重<sup>[3]</sup>。

盐胁迫对植物伤害的本质之一是膜脂过氧化程度与质膜渗漏的增加<sup>[20]</sup>。许多研究认为,盐胁迫下细胞质膜受伤害的主要原因,一是细胞中积累过多的  $Na^+$ ,置换了具有稳定和保护质膜作用的  $Ca^{2+}$ <sup>[21]</sup>;二是盐胁迫引发的膜脂过氧化作用破坏了质膜的结构<sup>[22]</sup>。该研究结果同样表明,盐胁迫引起了 MDA 含量和质膜透性增加,这主要是盐胁迫引发的膜脂过氧化作用破坏了质膜的结构。这与郑丽锦等<sup>[23]</sup>的研究结果相一致。

许多研究表明,盐胁迫促进  $Na^+$  等有害离子大量进入植株体内,并造成积累,破坏植物体内的离子和水分平衡,对植株生长造成伤害<sup>[24-25]</sup>。由于  $K^+$  和  $Na^+$  的水合半径相似,所以  $K^+$  会被过多的  $Na^+$  所取代,这是盐伤害的重要特征之一<sup>[26]</sup>。在盐胁迫下,  $Na^+$  也竞争  $Ca^{2+}$  在细胞膜上的位点,破坏了质膜的完整性<sup>[27]</sup>。在该研究中发现,盐胁迫下,草莓根、茎和叶中  $Na^+$  含量大幅上升,以根茎中含量最高;  $K^+$  和  $Ca^{2+}$  含量均下降,表明盐胁迫抑制了草莓对  $K^+$  和  $Ca^{2+}$  的吸收。但也有研究表明,在 150 mmol/L 盐胁迫下,达塞莱克特草莓根系中  $K^+$  含量没有明显变化,而叶片中  $K^+$  含量上升<sup>[28]</sup>,因此可以推断,盐胁迫对草莓的离子吸收影响可能与不同品种草莓的耐盐性有关。在该试验中也观察到,盐胁迫降低了根茎叶中的  $K^+/Na^+$  和  $Ca^{2+}/Na^+$ ,表明盐胁迫破坏了草莓植株体内的离子平衡。

综上所述,盐胁迫初期植物可通过调节植物体内抗氧化体系来缓解盐胁迫伤害,但随胁迫时间延长,抗氧

化酶调节系统遭到破坏,缓解盐伤害能力降低;盐胁迫也通过影响植物对离子的吸收和离子平衡,加大对植物的伤害。

### 参考文献

- [1] 伍国强,王强龙,包爱科,等.液泡膜  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  逆向转运蛋白与植物耐盐性[J].中国农业科技导报,2008,10(2):13-21.
- [2] Ashraf M, Foolad M R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance[J]. *Enviro Exp Bot*, 2007, 59: 206-216.
- [3] 颜志明,孙锦,郭世荣.外源脯氨酸对 NaCl 胁迫下甜瓜幼苗生长和活性氧物质代谢的影响[J].江苏农业学报,2011,27(1):141-145.
- [4] Gomez J M, Hernandez J A, Jimenez A, et al. Differential response of antioxidative enzymes of chloroplast and mitochondria to long-term NaCl stress of pea plants[J]. *Free Radical Res*, 1999, 31: 11-18.
- [5] Hernandez J A, Ferrer M A, Jimenez A, et al. Antioxidant systems and  $\text{O}_2^-/\text{H}_2\text{O}_2$  production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins[J]. *Plant Physiol*, 2001, 127: 817-831.
- [6] 王素平,贾永霞,郭世荣,等.多胺对盐胁迫下黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 幼苗体内  $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$  和  $\text{Cl}^-$  含量及器官间分布的影响[J].生态学报,2007,27(3):1122-1129.
- [7] 李青云,葛会波,胡淑明,等.钠盐和钙盐胁迫对草莓光合作用的影响[J].西北植物学报,2006,26(8):1713-1717.
- [8] 徐凯,郭延平,张上隆.草莓叶片光合作用对强光的响应及其机理研究[J].应用生态学报,2005,16(1):73-78.
- [9] Elstner E F, Heupel A. Inhibition of nitrate formation from hydroxyl-ammonium chloride; a simple assay for superoxide dismutase[J]. *Anal Biochem*, 1976, 70: 616-620.
- [10] Patterson B D, Mackae E A, Ferguson I B. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium[J]. *Anal Biochem*, 1984, 139: 487-492.
- [11] Heath R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetic and stoichiometry of fatty acid peroxidation [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1968, 125: 189-198.
- [12] Gong M, Li Y J, Chen S Z. Absciscic acid-induced the rmotolerance in maize seedlings is mediated by calcium and associated with antioxidant system

[J]. *Journal of Plant Physiology*, 1998, 153(4): 488-496.

- [13] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutases occurrence in higher plants[J]. *Plant Physiology*, 1977, 59: 309-314.
- [14] Chance M, Maehly A C. Assay of catalases and peroxidases[J]. *Methods Enzymol*, 1955(2): 764-817.
- [15] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Annual Biology chemical*, 1976, 72: 248-254.
- [16] 王宝山,赵可夫.小麦叶片中 Na、K 提取方法的比较[J].植物生理学通讯,1995,31(1):50-52.
- [17] Parida A K, Das A B. Salt tolerance and salinity effects on plants; a review[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2005, 60: 324-349.
- [18] 刘友良,汪良驹.植物对盐胁迫的反应和耐盐性[C]//余叔文,汤章城.植物生理与分子生物学.3版.北京:科学出版社,1998:752-769.
- [19] 赵可夫.植物抗盐生理[M].北京:中国科技出版社,1993:25-30.
- [20] 宋洪元,雷建军,李成琼.植物热胁迫反应及抗热性鉴定与评价[J].中国蔬菜,1998(1):48-50.
- [21] Cramer G R, Lauchli A, Polito V S. Displacement of  $\text{Ca}^{2+}$  by  $\text{Na}^+$  from the plasmalemma of root cells[J]. *Plant Physiology*, 1985, 79: 207-211.
- [22] 赵可夫,卢元芳,张宝泽,等.  $\text{Ca}^{2+}$  对小麦幼苗降低盐害效应的研究[J].植物学报,1993,35(1):51-56.
- [23] 郑丽锦,高志华,贾彦丽,等. NaCl 胁迫对草莓细胞膜稳定性的影响[J].河北农业科学,2010,14(6):7-9.
- [24] Yeo A R, Flowers T J. Salinity resistance in rice (*Oryza sativa* L.) and a pyramiding approach to breeding varieties for salines oil [J]. *Australian Journal of Plant Physiology*, 1986, 13: 161-173.
- [25] 陈惠哲, Natalia L, 朱德峰,等.盐胁迫下水稻苗期  $\text{Na}^+$  和  $\text{K}^+$  吸收与分配规律的初步研究[J].植物生态学报,2007,31(5):937-945.
- [26] Lynch J A. Salinity stress increase cytoplasmic activity in maize root protoplasts[J]. *Plant Physiology*, 1989, 90: 127-180.
- [27] 武维华,张蜀秋,袁明,等.植物生理学[M].北京:科学出版社,2003:86-105.
- [28] 李青云,葛会波,胡淑明. NaCl 胁迫下外源腐胺和钙对草莓幼苗离子吸收的影响[J].植物营养与肥料学报,2008,14(3):540-545.

## Effects of Salt Stress on Antioxidant System and Ion Uptake of Strawberry

YAN Zhi-ming, WEI Yue, JIA Si-zhen, DONG Hui, JI Yi

(Jiangsu Polytechnic of Agriculture and Forestry, Jurong, Jiangsu 212400)

**Abstract:** Taking ‘Hongjia’ strawberry as materials, the effects of salt stress on antioxidant system and ion uptake of strawberry were investigated under salt stress using nutrient solution hydroponics. The results showed that SOD, POD and CAT activities in leaves of strawberry first showed increasing trend, these enzymes arrived maximum at 6 h, and then showed a downward trend; at the same time,  $\text{O}_2^-$  generation rate,  $\text{H}_2\text{O}_2$  content, MDA content and membrane permeability all accelerated, and with stress prolonging increased larger. Salt stress significantly improved  $\text{Na}^+$  content, decreased  $\text{K}^+$  and  $\text{Ca}^{2+}$  contents in roots, stems and leaves of strawberry, these suggested that salt stress inhibited the  $\text{K}^+$  and  $\text{Ca}^{2+}$  absorption; salt stress decreased  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  and  $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$  in roots, stems and leaves of strawberry. These results indicated that at early stress, plants improved its resistance by increasing antioxidant enzyme activities, but the antioxidant system was destroyed with stress prolonging. Salt stress also inhibited absorption of mineral ions of strawberry, and destroyed the ion balance in plants.

**Key words:** strawberry; salt stress; antioxidant system; ion uptake