

NaCl 和 NaHCO₃ 对黄花补血草胁迫的生理生化特征

岳延峰¹, 马 辉¹, 倪细炉², 沈效东³, 彭 励^{1, 2}

(1. 宁夏大学 生命科学院, 宁夏 银川 750004; 2. 种苗生物工程国家重点实验室, 宁夏 银川 750004; 3. 宁夏林业研究所, 宁夏 银川 750004)

摘 要:以黄花补血草为试材, 研究 NaCl、NaHCO₃ 胁迫对黄花补血草叶绿素(Chl)、丙二醛(MDA)、脯氨酸(Pro)、超氧化物歧化(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)的影响。结果表明:叶绿素含量随2种盐浓度增加呈先升高再降低的趋势;丙二醛(MDA)含量对NaCl处理的影响不明显,而在NaHCO₃处理下,MDA含量持续增加;脯氨酸(Pro)含量随2种盐浓度增加而持续增加;抗氧化酶系统中的SOD、POD、CAT的活性持续提高。研究认为黄花补血草抗NaCl胁迫能力强于NaHCO₃。

关键词:NaCl; NaHCO₃; 黄花补血草; 盐胁迫

中图分类号:S 311; S 314 文献标识码:A 文章编号: 1001-0009(2010)05-0011-04

黄花补血草(*Limonium aureum*)是白花丹科补血草属多年生草本植物,植株高10~40 cm,叶基生,灰绿色,矩圆状匙形至倒披针形,花期枯萎,伞房状花序,因花萼金黄色,漏斗状,膜质,花萼又可入药,具有补血、消炎之功效,故称黄花补血草,又称金色补血草、金匙叶草^[1]。黄花补血草是干旱荒漠地区为数不多的野生花卉之一,是防风固沙的优良植物,多生于滩地、湖盆、戈壁、石质山坡、流动沙丘等干旱荒漠环境下,宁夏林业研究所于2002年从宁夏盐池县高沙窝、惠安堡乡野生环境中引进金色补血草,并推广应用于城市园林绿化建设中^[2]。

植物的耐盐性是一个十分复杂的反应过程,涉及组织器官结构、生理生化反应等多方面的因素^[3-5]。迄今为止,较多的研究集中在对补血草属植物的组织快繁和人工栽培,而对其适应逆境的抗逆生理机制的研究较少^[6]。现以黄花补血草为材料,检测NaCl和NaHCO₃处理下保护酶、叶绿素、脯氨酸(Pro)和丙二醛(MDA)等生理指标的变化,以期探讨黄花补血草耐盐性及其对盐胁迫的适应机理。

1 材料与方法

1.1 材料培养

第一作者简介:岳延峰(1983),男,硕士,现主要从事植物的抗性生理研究工作。E-mail: yanfeng031@tom.com。

通讯作者:彭励(1962),女,教授,硕士生导师,现主要从事植物学和植物化学研究工作。E-mail: pengli1124g@163.com。

基金项目:宁夏回族自治区自然科学基金资助项目(NZ08163);宁夏科技基础平台建设资助项目。

收稿日期:2009-10-19

黄花补血草种子采自银川植物园。黄花补血草种子用0.1%的HgCl₂浸泡10 min,无菌水浸泡冲洗6~8次,将种子播种于经过消毒的基质上,并置于温室中,保持相对湿度60%~80%,采用自然光照,昼夜温度24℃/16℃,每隔4 d浇1次水。出苗后,将苗移栽到室外以沙土为基质的33 cm×40 cm花盆中,盆土重约15 kg,每盆移栽3棵。

1.2 盐胁迫处理

将NaCl、NaHCO₃分别对供试植物进行处理。每组内又设6个盐浓度处理。其盐浓度依次为3、6、9、12、15、18 g·kg⁻¹。选取长势均匀的黄花补血草苗39盆随机分成13组,每组3盆为1个处理,其中1组为对照,6组为不同浓度的NaCl处理,6组不同浓度的NaHCO₃处理。处理于下午4~7时进行,以含有相应浓度的盐溶液为处理液,每盆1 500 mL分3次透灌花盆,对照组只灌蒸馏水,处理12 d后取样。

1.3 试验方法

叶绿素含量的测定:精确称取叶片干样0.5 g,依据参考文献[7]测定叶绿素含量。**丙二醛含量的测定:**精确称取叶片干样0.5 g,依据参考文献[8]测定MDA含量。**脯氨酸含量的测定:**精确称取叶片干样0.5 g,依据参考文献[9]测定Pro含量。**保护酶活性的测定:**精确称取样品0.4 g用Tris-HCl缓冲液(0.05 mol·L⁻¹ Tris-HCl; pH 8.0)在冰浴下充分研磨,4℃、10 000 rpm离心10 min,取上清液测定3种酶活性。**SOD活性测定,**根据SOD抑制氯化硝基四氮唑蓝(NBT)氧化还原的原理,用Stewart和Bewley的方法对SOD进行活性测定,单位为:U·g⁻¹。**CAT活性测定:**利用酶液可以

使底物过氧化氢分解使其总量减少的原理,用分光光度计在 240 nm 下检测过氧化氢减少量,单位: $U \cdot \min^{-1} \cdot g^{-1}$ 。POD 活性测定:酶液在过氧化氢存在的条件下,使愈创木酚变成褐色物质,然后在 470 nm 下比色测定,单位为: $U \cdot \min^{-1} \cdot g^{-1}$ 。

2 结果与分析

2.1 NaCl 和 $NaHCO_3$ 对黄花补血草叶绿素含量影响

如图 1 所示,在 2 种不同浓度盐胁迫下,随着盐浓度的升高,叶绿素含量总体呈下降的趋势。与对照相比 $3 g \cdot kg^{-1} NaCl$ 和 $3 g \cdot kg^{-1} NaHCO_3$ 处理黄花补血草叶绿素含量分别提高 3.7% 和 6.5%。9~18 $g \cdot kg^{-1}$ 2 种盐浓度之间,黄花补血草叶绿素含量呈急剧下降的趋势,而且与对照比较,经 $NaCl$ 处理的黄花补血草叶绿素含量平均下降 31.8%,而经 $NaHCO_3$ 处理的叶绿素含量下降了 42.6%。经方差分析,盐处理(3~9 $g \cdot kg^{-1}$)与对照相比,差异不显著($P > 0.05$);盐处理(12~18 $g \cdot kg^{-1}$)与对照相比,差异显著($P < 0.05$);说明叶绿素随着盐浓度的升高,受害程度加重。

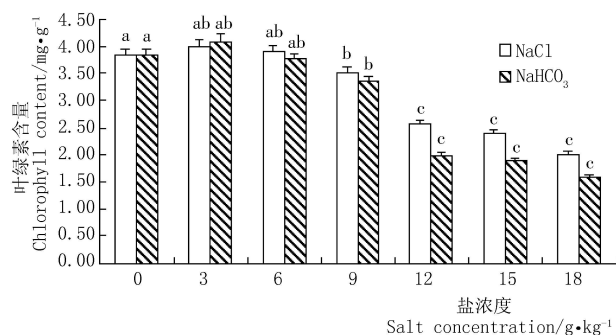


图1 NaCl 和 $NaHCO_3$ 胁迫对黄花补血草叶绿素含量的影响

Fig.1 Effects of NaCl and $NaHCO_3$ stress on chlorophyll content of *Limonium*

2.2 NaCl 和 $NaHCO_3$ 对黄花补血草 MDA 含量影响

如图 2 可知, $NaCl$ 处理时,MDA 含量基本保持稳定,说明 $NaCl$ 对黄花补血草细胞膜的伤害较小;而在 $NaHCO_3$ 处理时,在低浓度(3~12 $g \cdot kg^{-1}$)胁迫下,黄花补血草的 MDA 含量升高较小,方差分析差异不明显($P > 0.05$),当 $NaHCO_3$ 浓度达到 15~18 $g \cdot kg^{-1}$ 时,MDA 含量急剧增加,是对照的 3~4 倍,且 MDA 含量要明显高于同浓度的 $NaCl$ 处理组。经方差分析,不同浓度 $NaCl$ 处理的黄花补血草与对照相比无显著差异($P > 0.05$); $NaHCO_3$ 处理(3~12 $g \cdot kg^{-1}$)与对照差异不显著($P > 0.05$), $NaHCO_3$ 处理(15~18 $g \cdot kg^{-1}$)与对照差异显著($P < 0.05$),说明随着 $NaHCO_3$ 浓度的升高,其对细胞膜的伤害加重。

2.3 NaCl 和 $NaHCO_3$ 对黄花补血草的 Pro 含量影响

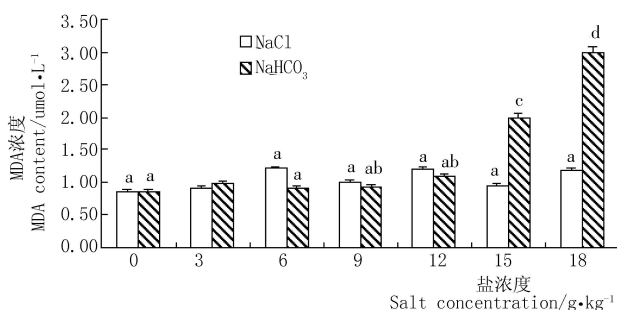


图2 NaCl 和 $NaHCO_3$ 胁迫对黄花补血草 MDA 含量的影响

Fig.2 Effects of NaCl and $NaHCO_3$ stress on MDA content of *Limonium*

从图 3 可看出,随着 $NaCl$ 和 $NaHCO_3$ 胁迫浓度的升高,黄花补血草 Pro 含量都呈升高的趋势。在同种盐浓度下,当盐浓度较低(3~12 $g \cdot kg^{-1}$)时,经 $NaCl$ 胁迫的黄花补血草 Pro 含量高于 $NaHCO_3$ 胁迫,当盐浓度较高(15~18 $g \cdot kg^{-1}$)时,经 $NaHCO_3$ 胁迫的黄花补血草 Pro 含量高于 $NaCl$ 胁迫。当盐浓度为 18 $g \cdot kg^{-1}$ 时,2 种胁迫下黄花补血草 Pro 含量达到最高,经 $NaCl$ 胁迫的黄花补血草 Pro 含量是对照的 44.19 倍,而经 $NaHCO_3$ 胁迫的黄花补血草 Pro 含量是对照的 70.05 倍。盐处理与对照相比,差异显著($P < 0.05$),说明黄花补血草 Pro 的含量对盐处理很敏感。

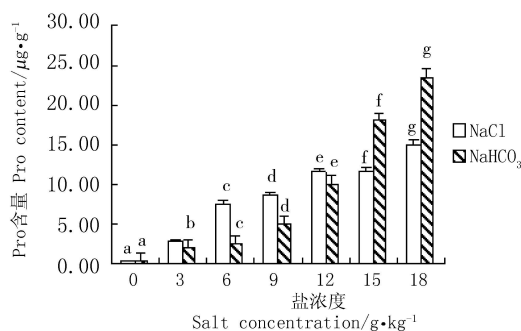


图3 NaCl 和 $NaHCO_3$ 胁迫对黄花补血草 Pro 含量的影响

Fig.3 Effects of NaCl and $NaHCO_3$ stress on Pro content of *Limonium*

2.4 NaCl 和 $NaHCO_3$ 对黄花补血草 SOD 活性影响

SOD 酶是植物处于逆境中最主要的一种抗氧化酶,它可以及时清除自由基和活性氧,提高植物组织的抗氧化能力。由图 4 可看出,在不同浓度 $NaCl$ 和 $NaHCO_3$ 胁迫下,黄花补血草 SOD 的活性均随着盐浓度的增加而显著增强。与对照相比, $NaCl$ 处理的 SOD 活性平均增强 2.2 倍,而 $NaHCO_3$ 处理的 SOD 活性平均增强 3 倍。经方差分析, $NaCl$ 处理(3~12 $g \cdot kg^{-1}$)与对照差异不显著($P > 0.05$), $NaCl$ 处理(15~18 $g \cdot kg^{-1}$)与对照相

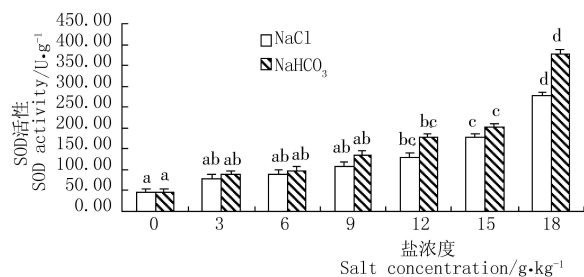


图4 NaCl 和 NaHCO₃ 胁迫对黄花补血草 SOD 活性的影响
Fig.4 Effects of NaCl and NaHCO₃ stress on SOD activity of *Limonium*

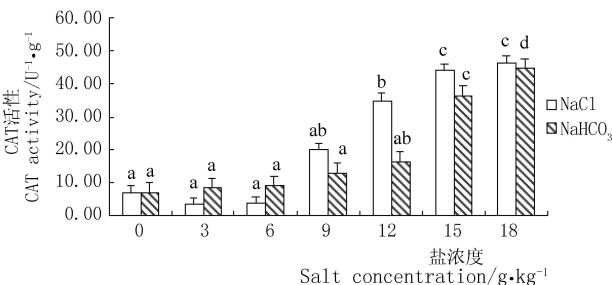


图5 NaCl 和 NaHCO₃ 胁迫对黄花补血草 CAT 活性的影响
Fig.5 Effects of NaCl and NaHCO₃ stress on CAT activity of *Limonium*

比差异显著($P<0.05$);与 NaHCO₃ 的结论类似。

2.5 NaCl 和 NaHCO₃ 对黄花补血草 CAT 活性影响

CAT 能有效清除植物体内过氧化氢对细胞的氧化作用。因此,植物体内存在 CAT 是其保护自身免受活性氧自由基毒害的关键。如图 5 所示,NaCl 处理时,黄花补血草 CAT 活性呈先下降后上升趋势,在 3 g·kg⁻¹ NaCl 处理时,CAT 的活性达到最低,其值为 3.15 U·g⁻¹·min⁻¹,与对照相比差异不显著($P>0.05$);随后随着盐浓度的增加,CAT 的活性不断增强,在 18 g·kg⁻¹ NaCl 处理时,CAT 的活性达到最高,其值为 46.46 U·g⁻¹·min⁻¹,与对照相比差异显著($P<0.05$);而在 NaHCO₃ 处理时,黄花补血草 CAT 的活性呈上升趋势,在 18 g·kg⁻¹ NaHCO₃ 处理时,CAT 的活性最高,其值为 44.89 U·g⁻¹·min⁻¹,是对照组的 5.3 倍,与对照相比差异显著($P<0.05$)。在较低浓度盐处理下,经 NaHCO₃ 处理的黄花补血草 CAT 活性比 NaCl 处理的高,在较高盐浓度处理下,经 NaCl 处理的黄花补血草 CAT 活性比 NaHCO₃ 处理的高。

2.6 NaCl 和 NaHCO₃ 对黄花补血草 POD 活性影响

POD 主要与 CAT 共同作用以消除 SOD 作用产生的过量的过氧化氢,使过氧化氢维持在一个较低的水平。如图 6 所示,随着盐浓度的升高,经 2 种盐处理黄花补血草 POD 的活性都增强,并在 18 g·kg⁻¹ 的浓度上达到最大值。经 NaCl 处理的 POD 的活性最大为

0.78 U·g⁻¹·min⁻¹,而经 NaHCO₃ 处理的 POD 活性到达 0.45 U·g⁻¹·min⁻¹。与对照相比,NaCl 处理 POD 活性平均提高 12.5 倍,而 NaHCO₃ 处理 POD 活性平均提高 8.7 倍。NaHCO₃ 处理时,黄花补血草 POD 活性的变化趋势与 NaCl 处理相似,NaCl 处理的黄花补血草的 POD 含量明显高于 NaHCO₃ 处理的。经方差分析,NaCl 处理与对照差异显著($P<0.05$);NaHCO₃ 处理与对照差异显著($P<0.05$)。

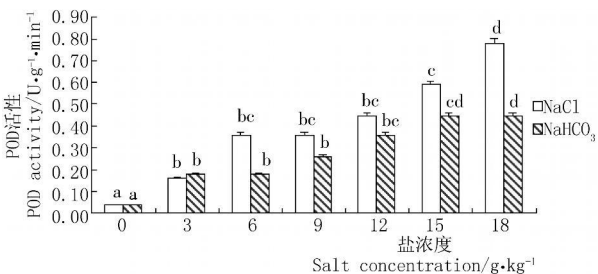


图6 NaCl 和 NaHCO₃ 胁迫对黄花补血草 POD 活性的影响
Fig.6 Effects of NaCl and NaHCO₃ stress on POD activity of *Limonium*

3 结论

盐胁迫使叶绿素的合成受阻,叶绿素含量下降,叶绿体超微结构及精细结构的形成受阻,叶绿体超微结构发生变异。张景云等^[11]认为胁迫对叶绿体的膜系统产生伤害,叶绿体老化加快,片层逐渐解体,外形轮廓发生变化,内部片层排列方向发生改变,并发生轻微膨胀,基粒数目减少,内部结构趋向简单,以至瓦解,最终导致叶绿素含量下降。植物叶片叶绿素含量是衡量植物在盐胁迫下耐盐性的重要生理指标之一^[12-13]。该试验结果表明,随着盐浓度的升高,叶绿素的含量呈下降的趋势,当盐浓度在 9 g·kg⁻¹ 以下时,对叶绿素的伤害较低,当盐浓度高于 12 g·kg⁻¹ 时对叶绿素的伤害较高。

丙二醛含量的变化可以作为衡量植物在盐胁迫下受伤害程度的重要指标,盐碱胁迫导致植物中 MDA 含量增加的报道已有很多,其含量越高,表明植物受伤害的程度就越大^[14-17]。该试验中随着盐浓度的升高,NaCl 胁迫下黄花补血草的 MDA 含量变化不大,而 NaHCO₃ 胁迫下黄花补血草的 MDA 含量持续升高,说明 NaHCO₃ 盐胁迫使黄花补血草叶片膜质过氧化作用加剧,膜系统受到破坏,膜透性增加,而 NaCl 对黄花补血草的伤害较小。

多数研究表明盐胁迫下脯氨酸大量积累,并通过维持渗透调节,稳定蛋白质,保护细胞膜结构的稳定^[17],因此脯氨酸积累被作为衡量植株耐盐性的指标。该试验中,随着盐浓度升高,Pro 含量持续增加。盐胁迫对黄花补血草造成离子伤害,也使黄花补血草吸水困难,而 Pro

含量的升高提高补血草的渗透势, 有利于黄花补血草吸收水分。

盐胁迫下植物体内活性氧的积累是导致盐害的主要原因之一, 在正常生长情况下, 植物细胞内活性氧的产生和清除处于动态平衡, 不会伤害细胞, 而多种逆境胁迫都引发细胞内活性氧的过量生产、积累而打破了平衡, 活性氧导致膜过氧化和脱脂化从而使细胞结构和功能都受到破坏。植物对胁迫的响应之一就是这些保护酶活性的变化, 如小麦^[18]、果树^[19]等在 NaCl 胁迫下均表现保护酶活性不同程度的增加。该试验表明, 随着盐浓度的升高, SOD、POD 和 CAT 活性不同程度的升高。盐胁迫致使黄花补血草体内自由基含量升高, 自由基主要伤害膜系统, 黄花补血草 3 种酶主要作用是清除自由基, 其活性的升高加快清除自由。

综上所述, 随着盐浓度的升高, NaHCO₃ 胁迫下黄花补血草叶绿素含量下降幅度大于 NaCl, 说明 NaHCO₃ 对黄花补血草的伤害大于 NaCl; NaCl 胁迫下 Pro 含量增加幅度比 NaHCO₃ 大, 表明黄花补血草对 NaCl 的耐受能力比 NaHCO₃ 强; NaCl 和 NaHCO₃ 都引起黄花补血草叶片中 SOD、POD 和 CAT 活性的提高, 而经 NaCl 处理的黄花补血草酶活性要比 NaHCO₃ 强。经过比较黄花补血草对 2 种盐的生理响应, 得出黄花补血草耐 NaCl 胁迫的能力强, 而耐 NaHCO₃ 胁迫的能力较差。

参考文献

- [1] 中国科学院西北高原生物研究所. 青海植物志[M]. 西宁: 青海人民出版社, 1996.
- [2] 沈效东. 节水耐旱园林观赏植物研究与示范[M]. 北京: 中国林业出版社, 2007.
- [3] 唐晓敏, 王文全, 张红瑞等. 不同浓度 NaCl 处理对甘草叶片生理特性的影响[J]. 中国农业通报, 2008, 24(1): 229-232.

- [4] 邱收, 于晓英, 谢明亨等. 盐胁迫对萱草细胞膜透性和渗透调节物质的影响[J]. 信阳农业高等专科学校学报, 2008, 18(6): 115-117.
- [5] 周玲玲, 冯元忠, 吴玲等. 新疆六种盐生植物的解剖学研究[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2002(6): 217-221.
- [6] 荀晓晓. 内蒙古克旗育成大面积二色补血草[N]. 中国花卉报, 2008.
- [7] 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: 134-136.
- [8] 张志良, 翟伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2003: 274-276.
- [9] 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: 278-279.
- [10] 刘学军, 苗以农, 许守民等. 大豆各生育期叶片过氧化物酶和过氧化氢酶的变化[J]. 中国油料, 1992(1): 12-14.
- [11] 张景云, 吴凤芝. 盐胁迫对黄瓜不同耐盐品种叶绿素含量和叶绿体超微结构的影响[J]. 中国蔬菜, 2009(10): 13-16.
- [12] 马健, 王凯, 刘庆华等. NaCl 胁迫对葛藤生长和生理指标的影响[J]. 江苏农业科学, 2009(2): 167-169.
- [13] 克热木, 侯江涛, 买合木提等. 盐胁迫对扁桃光合特性和叶绿体超微结构的影响[J]. 西北植物学报, 2006, 26(11): 2220-2226.
- [14] 张玉东, 姜中珠, 马菊对不同浓度 NaHCO₃ 胁迫的生理响应[J]. 植物研究, 2009, 29(1): 49-53.
- [15] 陈友根, 章敏, 王冬良等. 甜瓜幼苗对 NaCl 胁迫伤害的生理响应[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(8): 3390-3392.
- [16] 张倩, 何婧, 王桢等. 中华芦荟在不同胁迫下的丙二醛和可溶性糖含量的变化[J]. 西南民族大学学报(自然科学版), 2009, 35(2): 290-292.
- [17] Dem I Y, Kocacaliskan I. Effect of NaCl and proline on bean seed-lings cultured in vitro[J]. Biologia Plantarum, 2002, 45(4): 597-599.
- [18] Dem R T, Turkan I. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars different salt tolerance[J]. Environmental and Experimental Botany, 2005, 53: 247-257.
- [19] 张士功, 高吉寅, 宋景芝. 水杨酸和阿斯匹林对盐胁迫下小麦种子萌发的作用[J]. 植物生理学通讯, 1999, 35(1): 29-33.
- [20] 郑丽锦, 张学英, 葛会波. 果树盐胁迫生理生化特性的研究进展[J]. 河北农业大学学报, 2003, 26(增刊): 41-44.

Comparative Studies on Growth and Physiological Reaction of *Limonium aureum* under NaCl and NaHCO₃ Stresses

YUE Yan-feng¹, MA Hui¹, NI Xi-lu², SHEN Xiao-dong³, PENG Li^{1,2}

(1. Life Science College of Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750004; 2. Key National Laboratory of Seedling Bioengineering, Yinchuan, Ningxia 750004; 3. Ningxia Forestry Institute, Yinchuan, Ningxia 750004)

Abstract: A hydroponical culture experiment of *Limonium aureum* was conducted to explore responses of the plants to NaCl and NaHCO₃ stress for 12 days in chlorophyll content, MDA content, Pro content, SOD activity, CAT activity and POD activity. The results indicated that chlorophyll content raised, and then decreased with increasing NaCl or NaHCO₃ concentration. Compared with CK, MDA content had unsignificant change under NaCl stress, and its content increased rapidly under NaHCO₃ stress. Pro content its content increased rapidly. SOD activity, CAT activity and POD activity raised. The salt tolerance of NaHCO₃ might be higher than that of NaCl.

Key words: NaCl; NaHCO₃; *Limonium aureum*; salt stress