

氯化钠胁迫下植物根际促生菌对白三叶草生长的影响

刘 军¹, 辛树权², 赵骥民²

(1. 长春师范学院 后勤服务处, 吉林 长春 130032; 2. 长春师范学院 生命科学学院, 吉林 长春 130032)

摘 要:以白三叶草种子为试材,用 ACC9-1 脱氨酶促生菌的菌体悬浮液对白三叶草种子进行浸泡处理并用夹板法种植于不同浓度氯化钠胁迫的溶液中(水培),检测了不同处理下白三叶草的生理、生化指标,比较了促生菌对白三叶草生长的影响。结果表明:随着氯化钠处理浓度的升高,白三叶草幼苗受到的胁迫程度不断增加,当加入促生菌时,胁迫程度降低。说明植物根际促生菌的加入对白三叶草幼苗的盐害有缓冲、调节和适应的作用,因而对降低白三叶草幼苗盐害有重要作用。

关键词:氯化钠;植物根际促生菌;胁迫;白三叶草

中图分类号:S 541+.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)03-0065-05

植物根际促生细菌(PGPR)对植物生长的促进作用备受关注,已有研究认为 PGPR 可以合成某些植物生长激素或酶等物质调节植物生长。部分 PGPR 可产生 1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylate, ACC)脱氨酶,它可将植物体内乙烯前体 ACC 直接分解成 α -丁酮酸和氨,进而降低逆境条件下(高盐、重污染、干旱等)产生的大量乙烯,乙烯是植物生长抑制剂和植物衰老促进剂,降低产生的乙烯浓度可以促进植物的生长,尤其是促进根系的生长发育^[1]。ACC 脱氨酶促生菌是指具有 ACC 脱氨酶活性的一类对植物生长有促进作用的细菌,ACC 脱氨酶促生菌的促生机制已经得到阐明,并已把 ACC 脱氨酶促生菌归为植物生长促进细菌的一部分^[2]。

在我国部分地区水资源比较缺乏,因此土地绿化区域的灌溉采用重复利用的地下循环水方式,由于部分地区水中含有一定浓度的盐,经长期灌溉积累造成地表土盐渍化。土壤的盐含量过多会对植物产生极其严重的不良影响。如种子的发芽率降低;种子发芽和幼苗生长发生延缓;植物细胞膜的透性改变;土壤水势下降,致使植物不能吸水,甚至使体内水分外渗;植物叶绿素合成受阻;呼吸作用受到抑制^[4],进而影响作物正常的生殖生长等。目前我国盐荒地和盐渍化土壤大约占可耕地面积的 25%。土壤盐碱化的程度越来越重,盐碱化的土

壤面积已经占有一定比例,并且有日益扩大和蔓延的趋势^[5]。目前解决土地盐碱化的方法有物理、化学及生物等方法。物理或化学方法都易造成土地的二次污染,采用生物方法可有效地解决这一问题,并具有投资少、见效快、无污染等特点^[6]。植物种子耐盐性是耐盐碱植物筛选与早期鉴定的主要依据之一^[7]。种子能否在盐胁迫下萌发成苗,是植物在盐碱条件下生长发育的前提,因此,研究盐胁迫下种子萌发生理具有十分重要的意义^[8]。

白三叶草普遍被用于绿化的草坪建设中^[3]。以往禾本科草坪草种建植的草坪,由于修剪频繁、浇水量大,已成为草坪业发展的限制条件;而采用白三叶草建植草坪,具有不需修建,管理强度小;浇水次数少,管理较粗放;自然更新、草坪经久不衰;侵占性强,观赏性较好等优点。用白三叶草做坪现已被人们逐渐采用。因此,开展白三叶草幼苗耐盐生理和抗盐育种的研究显得十分必要,对于缓解和改良土地盐碱化问题具有十分重要的意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

ACC9-1 脱氨酶细菌(长春师范大学生命科学学院微生物室保存);白三叶草种子(吉林省群益园林工程机械有限公司,品名:白三叶 Rivendel)。

试剂:氯化钠、TSB 培养基、95%乙醇、0.02 mol/L 磷酸二氢钾、愈创木酚、100 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 6.0)、30%过氧化氢、石英砂、考马斯亮蓝 G-250 溶液、85%磷酸,以上药品均为分析纯。

主要仪器:LD 4-2 离心机、T6 新悦-可见分光光度计、84-1 型磁力搅拌器、THZ-312 型台式恒温振荡器。

第一作者简介:刘军(1969-),男,吉林梅河口人,硕士,高级农艺师,现主要从事园林植物逆境生理等研究工作。E-mail: zhaogroup@126.com.

基金项目:吉林省教育厅科研资助项目(吉教科合字[2009]第 204 号)。

收稿日期:2013-10-24

1.2 试验方法

1.2.1 氯化钠处理浓度 设4个氯化钠处理浓度,分别为0.2%、0.4%、0.6%、0.8%,以不加NaCl为对照(CK)。

1.2.2 种植培养槽、夹板及滤纸的准备 用脱脂棉蘸取75%的乙醇溶液反复擦拭培养槽以及夹板,达到杀菌的目的;将滤纸裁成与夹板相同大小后经高温灭菌备用(图1)。



图1 种植培养槽、夹板及滤纸法

1.2.3 菌体悬浮液的制备 取200 μ L ACC9-1 脱氢酶促生菌的菌液加到60 mL的TSB培养基里,160 r/min、30℃条件下培养24 h,后在3 000 r/min,室温下离心15 min,收集上清液,并用无菌水悬浮菌体,使其在波长600 nm下的OD值维持在0.5左右。

1.2.4 种子处理 选取饱满、大小一致的白三叶草种子,用0.1%氯化汞消毒3 min,用无菌水清洗5次后,室温下用菌体悬浮液浸泡3 h,设蒸馏水浸泡为对照。

1.2.5 种植 将浸泡处理后的种子种植于备好的滤纸夹板中,每板20粒,每个处理2次重复,用塑料夹板加紧,于25℃光照培养箱内培养11 d。

1.3 项目测定

1.3.1 生理指标的测定 白三叶草生长到一定时间后,测定白三叶草的根长、苗高、根重、苗重、发芽率、发芽势。测定方法参照顾增辉等^[9]的方法。

1.3.2 生化指标的测定 称取0.2 g白三叶草的叶片于研钵,加入1 mL 0.05 mol/L pH 5.5的磷酸缓冲液进行研磨,再加入9 mL的磷酸缓冲液进一步研磨,将匀浆全部转入离心管中,以4 000 r/min 4℃离心10 min,防止离心过程中酶活性发生变化,离心后的上清液即为酶的粗提取液。过氧化物酶液的制备和酶活力的测定采用愈创木酚法^[10]:将磷酸缓冲液2 mL、酶液1 mL、0.05 mol/L 愈创木酚1 mL和1 mL 2% H_2O_2 加入试管中,立即摇匀并迅速倒入比色皿中,用U-2800型紫外可见分光光度计于470 nm波长下比色,立刻记录吸光度值,每30 s记录1次,记录4 min,以缓冲液作对照;可溶性蛋白质含量的测定采用考马斯亮蓝法^[10]:取上述酶

液1.0 mL,放入试管中,加5 mL考马斯亮蓝G-250溶液,充分混合,放置10 min后在波长595 nm下比色,记录吸光值,并通过标准曲线计算得蛋白质含量;丙二醛含量的测定^[10]:称取白三叶草植物组织1 g,加入适量石英砂,2 mL 10%三氯乙酸,研磨至匀浆,再加入8 mL 10%三氯乙酸,进一步研磨,研磨后匀浆以4 000 r/min离心10 min,得到的上清液为丙二醛的提取液。取4支干净的试管,进行编号,其中3支为样品管(3次重复),各加入丙二醛提取液2 mL,对照管则加入等量蒸馏水,再向各管加入2 mL 0.6%硫代巴比妥酸溶液。摇匀,将混合液放置沸水浴中,反应15 min,经过迅速冷却,再离心。将此次离心后的上清液分别在532、600、450 nm波长下测定吸光度(A)值。

2 结果与分析

2.1 植物促生菌 ACC9-1 对白三叶草幼苗的促生效果

根长、苗高、根鲜重、苗鲜重、发芽率、发芽势等生理指标的测定结果见图2。植物生长过程中的生物量大体上能反应出植物生长过程中对环境的适应能力。

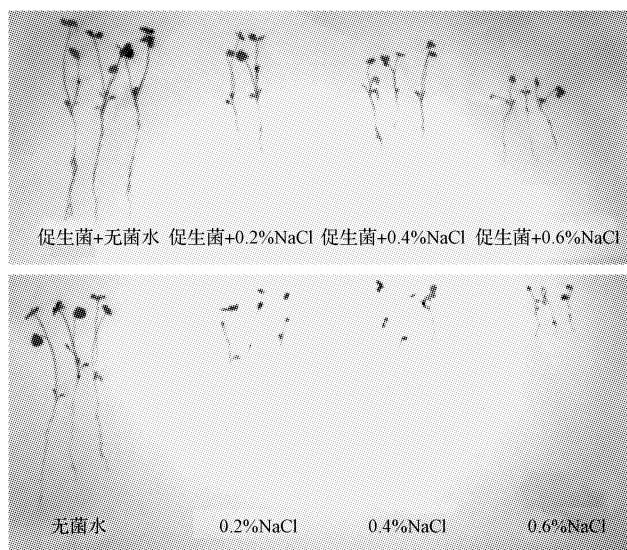


图2 植物促生菌 ACC9-1 对白三叶草幼苗的促生效果

2.1.1 不同浓度氯化钠胁迫下白三叶草幼苗根长的变化 由图3可知,随氯化钠胁迫浓度的升高,白三叶草幼苗根长受抑制程度加重,表现出明显的剂量-效应关系。当加入促生菌时,加入促生菌的白三叶草幼苗根长明显高于加入无菌水的幼苗根长,当氯化钠浓度为0.6%时,白三叶草根长明显高于对照,为对照组的2.40倍。

2.1.2 不同浓度氯化钠胁迫下白三叶草幼苗苗高的变化 由图4可知,随氯化钠胁迫浓度的增加,氯化钠对白三叶草幼苗苗高有抑制作用,但抑制效果不显著,加入促生菌处理的幼苗苗高高于加入无菌水处理的幼苗苗高。当氯化钠浓度为0.8%时,白三叶草苗高明显高

于对照,为对照组的 1.62 倍。

2.1.3 不同浓度氯化钠胁迫下白三叶草根重的变化

由图 5 可知,随氯化钠胁迫浓度的增加,氯化钠对白三叶草根的生长有抑制作用,抑制效果比较明显。加入促生菌处理的白三叶草幼苗根重大于加入无菌水处理的白三叶草幼苗根重。当氯化钠浓度为 0.2% 时,加入促生菌的白三叶草幼苗根重明显高于对照,为对照组的 1.96 倍。

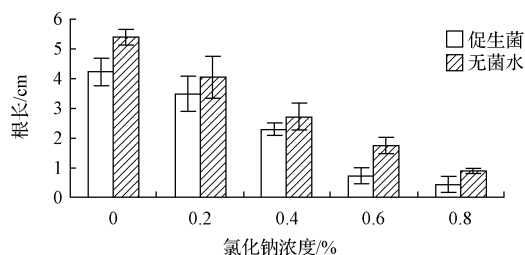


图 3 不同浓度氯化钠胁迫下白三叶草幼苗根长的变化

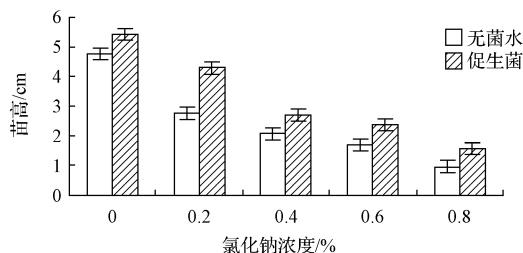


图 4 不同浓度氯化钠胁迫下白三叶草幼苗苗高的变化

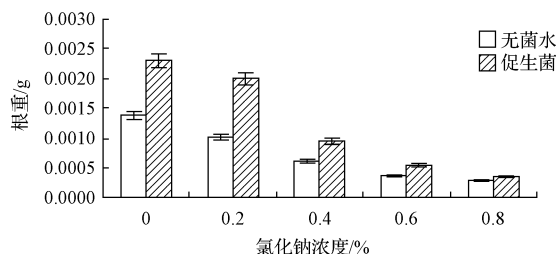


图 5 不同浓度氯化钠胁迫下白三叶草幼苗根重的变化

2.1.4 不同浓度氯化钠胁迫下白三叶草苗重的变化

由图 6 可知,随氯化钠处理浓度的增加,氯化钠对白三叶草幼苗的生长有抑制作用,抑制效果比较明显。加入促生菌处理的白三叶草幼苗苗重重于加入无菌水处理

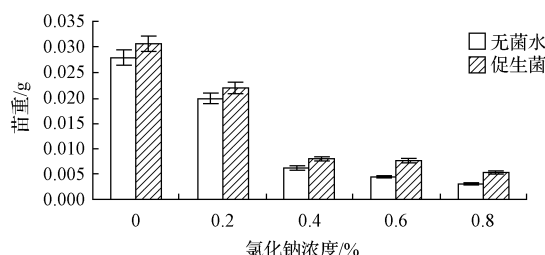


图 6 不同浓度氯化钠胁迫下白三叶草幼苗苗重的变化

的白三叶草幼苗苗重。当氯化钠浓度为 0.6% 时,加入促生菌的白三叶草幼苗苗重明显高于对照,为对照组的 1.71 倍。

2.1.5 不同浓度氯化钠胁迫下白三叶草发芽率的变化

由图 7 可知,随氯化钠处理浓度的增加,氯化钠对白三叶草发芽率有抑制作用,但抑制效果不是十分明显。加入促生菌处理的白三叶草种子发芽率高于加入无菌水处理的白三叶草种子。当氯化钠浓度为 0.8% 时,加入促生菌的白三叶草发芽率明显高于对照,为对照组的 2.11 倍。

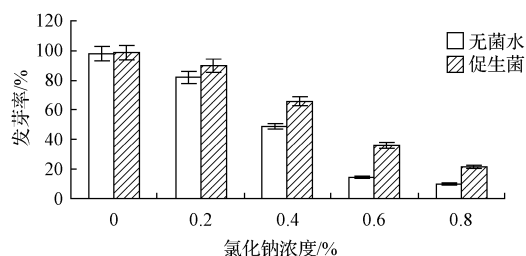


图 7 不同浓度氯化钠胁迫下白三叶草发芽率的变化

2.1.6 不同浓度氯化钠胁迫下白三叶草发芽势的变化

由图 8 可知,随氯化钠处理浓度的增加,氯化钠对白三叶草发芽势有抑制作用,但抑制效果不是十分明显。加入促生菌处理的白三叶草种子发芽势高于加入无菌水处理的白三叶草种子。当氯化钠浓度为 0.6% 时,白三叶草发芽势明显高于对照,为对照组的 2.53 倍。

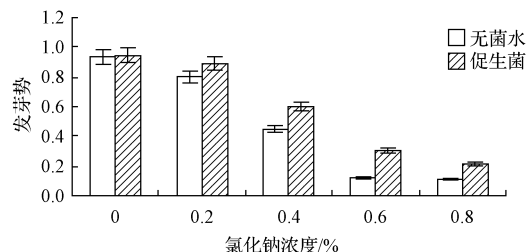


图 8 不同浓度氯化钠胁迫下白三叶草发芽势的变化

2.2 生化指标的测定

2.2.1 过氧化物酶活性 过氧化物酶是植物体普遍存在的、活性较高的一种氧化还原酶,它与植物的呼吸作

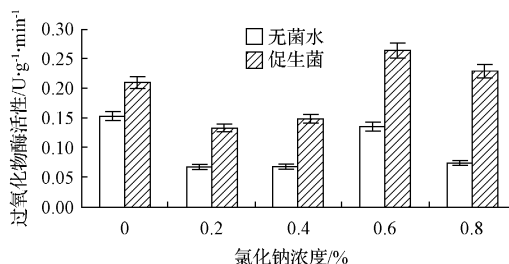


图 9 不同浓度氯化钠胁迫下白三叶草幼苗过氧化物酶活性的变化

用、光合作用及生长等有极其密切的关系。过氧化物酶在植物体内不仅与植物正常的形态发生和形态建成有关,还与植物的抗逆性和衰老过程有关。过氧化物酶是植物保护酶系的重要保护酶之一,通过研究过氧化物酶活性的变化,可以了解植物的生长发育情况及代谢状况^[11]。由图 9 可知,随氯化钠处理浓度的升高,过氧化物酶活性发生变化。经过促生菌处理的植株,过氧化物酶活力明显提高,当氯化钠浓度为 0.4% 时,白三叶草过氧化物酶活性明显高于对照,为对照组的 2.18 倍。可见,在氯化钠胁迫下,促生菌提高了幼苗对盐的耐受性。

2.2.2 可溶性蛋白质含量 蛋白质在生命活动中发挥重要的作用^[12]。由图 10 可知,随着氯化钠浓度的增加,可溶性蛋白质的含量降低,变化比较明显。但当加入促生菌后,植株蛋白质含量明显增高,在氯化钠浓度为 0.8% 时,为对照组的 1.63 倍。说明在氯化钠胁迫下,促生菌在幼苗生长过程中能减缓可溶性蛋白质降解,使可溶性蛋白质维持在较高水平,对细胞内的渗透势的调节有一定作用。

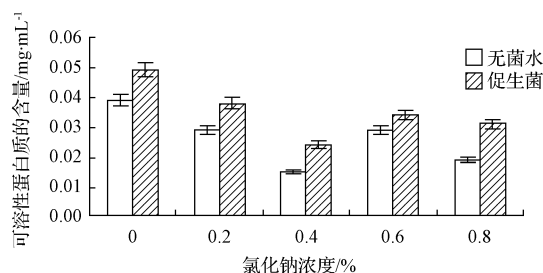


图 10 不同浓度氯化钠胁迫下白三叶草幼苗可溶性蛋白质含量的变化

2.2.3 丙二醛含量 当植物处于逆境环境下细胞膜的响应最为敏感。重金属胁迫后的植物,由于膜脂过氧化而使细胞膜遭受损伤,细胞膜中不饱和脂肪酸被降解,脂肪酸指数下降,MDA 含量增加,细胞膜结构和生理功能遭到破坏,产物 MDA 含量是反映脂质过氧化作用强弱的一个重要指标^[13]。从图 11 可以看出,随着氯化钠溶液浓度的增加,白三叶草的丙二醛含量不断增加,而加入促生菌幼苗的丙二醛含量显著低于无菌幼苗,在氯化钠浓度为 0.4% 时,对照组为加入促生菌的 1.70 倍。

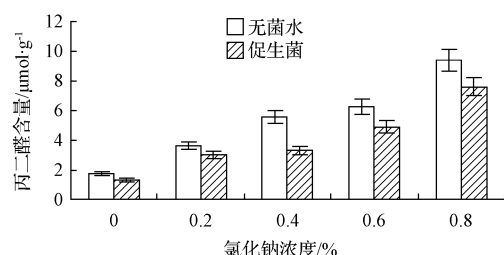


图 11 不同浓度氯化钠胁迫下白三叶草幼苗丙二醛含量的变化

由此可知,植物促生菌可减少丙二醛的积累,并消除丙二醛对植物组织的伤害,从而增强白三叶草的抗逆性与适应性。

3 结论

种子的萌发受多种内、外因素影响,是个复杂过程^[14]。盐胁迫对盐生植物和非盐生植物来说,都会造成种子发芽率下降,发芽时间推迟和延长的现象^[15]。

在白三叶草的萌发过程中,随着氯化钠浓度的升高,白三叶草幼苗的发芽率、发芽势、根长、苗高、根重、苗重,过氧化物酶活力、丙二醛含量以及可溶性蛋白质含量都不同程度的受到抑制。但加入促生菌后幼苗对氯化钠胁迫均有缓冲、调节、适应的作用,因而对白三叶草幼苗耐盐性产生影响。

在氯化钠胁迫下,白三叶草的生长明显受到的抑制,抑制程度既取决于氯化钠胁迫浓度,又取决于白三叶草的抗盐能力和盐胁迫的时间。在试验中个别数据没有明显变化,可能是因为菌种对植株处理时间不够长,作物的耐盐性是受多因素控制的,常以作物的生长条件为基础,品种、生育期等及环境(温度、光照等)对作物的耐盐性都会产生影响。

参考文献

- [1] Grick B R, Karaturovic D M, Newell P C. A novel procedure for rapid isolation of plant growth-promoting pseudomonads [J]. Can J Microbiol, 1995, 41: 533-536.
- [2] 吉云秀, 黄晓东. 植物促生菌对燕麦初生苗盐胁迫下的促生效应[J]. 大连海事大学学报, 2007, 8(3): 86-89.
- [3] 刘维红, 闫淑珍, 杨启银, 等. ACC 脱氨酶活性细菌筛选及其对初生苗生长的影响[J]. 江苏农业科学, 2006(2): 80-84.
- [4] Rybicki B A, Nock N L, Saveria A T, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adduct formation in prostate carcinogenesis [J]. Cancer Letters, 2006, 239(2): 157-167.
- [5] 宋玉芳, 周启星, 许华夏, 等. 1,2,4-三氯苯对土壤高等植物根伸长抑制的生态毒性效应[J]. 生态学报, 2002, 22(11): 1945-1950.
- [6] 姚拓. 促进植物生长菌的研究进展[J]. 草原与草坪, 2002(4): 3-5.
- [7] 阎顺国, 沈禹颖. 生态因子对碱茅种子萌发期耐盐性影响的数量分析[J]. 植物生态学报, 1996, 20(5): 414-422.
- [8] 孙国荣, 阎秀峰. 盐碱胁迫下星星草种子萌发过程中有机物、呼吸作用及其几种酶活性的变化[J]. 植物研究, 1999, 19(4): 445-451.
- [9] 顾增, 宋剑辉. 大豆抗冷性生理生化指标的筛选[J]. 中国农业科学, 1992, 25(4): 15-231.
- [10] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社.
- [11] 李春, 莫文萍, 郑元元, 等. 棉花解盐促生菌的筛选及其作用机理的初步研究[J]. 石河子大学学报, 2006, 24(1): 32-36.
- [12] 赵可夫. 植物抗盐生理[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1993.
- [13] 阮松林, 薛庆中. 盐胁迫条件下杂交水稻种子发芽特性和幼苗耐盐生理基础[J]. 中国水稻科学, 2002, 16(3): 281-284.
- [14] 傅家瑞. 种子生理[M]. 北京: 科学出版社, 1985.
- [15] 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, 8(3): 54-60.

模拟干旱胁迫对八棱海棠根系生理生化指标的影响

张 灏^{1,2}, 曹 慧¹

(1. 山东省高校生物化学与分子生物学重点实验室, 潍坊学院, 山东 潍坊 261061; 2. 山西农业大学 园艺学院, 山西 太谷 030801)

摘 要:以八棱海棠幼苗为试材,研究了不同浓度的 PEG-6000 模拟干旱胁迫对八棱海棠根系生理生化指标的影响。结果表明:不同程度干旱胁迫均使八棱海棠根系丙二醛(MDA)和游离脯氨酸(Pro)含量增多,过氧化物酶(POD)活性提高;过氧化氢酶(CAT)活性、可溶性蛋白质含量在干旱胁迫前期比对照均有不同程度的提高,随着胁迫时间的延长,CAT 活性、可溶性蛋白质含量大幅度下降,且下降幅度为:20%PEG>15%PEG>10%PEG>5%PEG;5%PEG、10%PEG、15%PEG 胁迫 CAT 活性和可溶性蛋白含量虽下降,但仍高于对照水平;20%PEG 胁迫使CAT 活性、可溶性蛋白质含量低于对照水平,这说明干旱胁迫使植物体内正常的蛋白质合成受到抑制,根系可能已经失去了对于干旱胁迫的适应性与可调控性,细胞内膜系统受到严重损伤;干旱逆境对膜系统的伤害是脂质过氧化作用增强的结果。

关键词:干旱胁迫;八棱海棠;根系;生理生化指标;PEG-6000

中图分类号:S 661 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)03-0069-05

目前,全世界有三分之一的可耕地处于供水不足状态,干旱是制约农业生产的主要非生物逆境因子^[1],

第一作者简介:张灏(1988-),男,硕士研究生,现主要从事果树生理等研究工作。

责任作者:曹慧(1966-),女,博士,教授,现主要从事果树生理等研究工作。E-mail:hui5232@163.com。

基金项目:山东省科学技术发展计划资助项目(2011GNC11201);山东省高等学校科技计划资助项目(J10LC64);潍坊市科技发展计划资助项目(201003037)。

收稿日期:2013-10-24

对植物的危害在所有非生物危害中居首位^[2],也是造成苹果属植物产量不高不稳的一个重要因素^[3]。植物在遭受干旱胁迫时,植株体可根据水势大小进行水分重新分配,加速失水器官和组织的衰老死亡,从而对植物造成永久性伤害^[4]。深入研究苹果属植物抗旱机理提高水分利用效率,已经成为当前种植果树迫切需要解决的问题^[5]。

八棱海棠(*Malus robusta* Rehd.)是北方常用砧木。近年来,由于气候变化带来的苹果产区降水量、降水时间及降水年际分布不均衡等现象,使苹果生产面临的干旱缺水问题更加严峻。解决苹果生产中面临的干旱缺

Effect of Plant Growth Promoting Bacteria on Growth of Butch Clover Stressed with NaCl

LIU Jun¹, XIN Shu-quan², ZHAO Ji-min²

(1. Logistics Service, Changchun Normal University, Changchun, Jilin 130032; 2. College of Life Science, Changchun Normal University, Changchun, Jilin 130032)

Abstract: The seeds of Butch clover were used as experimental materials and were soaked with suspension of bacteria ACC9-1, then the seeds were planted through plate-plate method with different concentration of NaCl solution (Hydroponics). The physical and biochemistry indexes were detected to compare the influencing effects on the growth of Butch clover. The results showed that Butch clover seedlings had a greater damage when the concentration of NaCl was higher. Additionally, if seeds were treated with ACC9-1, the damages decreased a bit. All in all, Butch clover had the capacity of buffering, moderating and adapting to the NaCl stress after adding plant growth promoting bacteria. Therefore, plant growth promoting bacteria could play an important role in reducing damages arise from NaCl in Butch clover.

Key words: NaCl; plant growth promoting bacteria; stress; Butch clover