

黄河三角洲贝壳堤岛二色补血草生长和保护酶特性对盐胁迫的响应

李田, 刘庆, 田家怡, 孙景宽

(滨州学院 山东省黄河三角洲生态环境重点实验室, 山东 滨州 256603)

摘要: 用不同浓度的 NaCl 溶液(0, 50, 100, 200, 300 mmol/L) 模拟盐胁迫, 研究盐胁迫对二色补血草幼苗生长特性及保护酶系统的影响。结果表明:(1) 100 和 200 mmol/L 盐胁迫下, 根长和叶片数分别为对照的 1.3, 1.67 倍, 根(叶)鲜重、干重显著高于对照;根鲜重和叶干重在 100 mmol/L 盐胁迫下最高, 分别为对照的 1.35, 1.6 倍;300 mmol/L 盐胁迫下, 根长和叶片数均为对照的 0.78 倍, 根(叶)鲜重、干重分别为对照的 0.67(0.79)和 0.85(0.69)。地上、地下生物量受盐胁迫的抑制程度大小不明显。(2) 随着盐胁迫的增加, 二色补血草叶片中 SOD, POD, CAT 3 种保护酶活性均呈上升趋势, 在盐浓度为 300 mmol/L 时活性最大, 分别为对照的 2.12, 1.83, 2.57 倍;MDA 含量在盐浓度 300 mmol/L 下, 才显著高于对照, 为对照的 1.6 倍。(3) 从研究结果初步判定, 二色补血草具有较强的耐盐性, 可以在盐浓度 300 mmol/L 以下的环境中生长。

关键词: 二色补血草; 生长; 盐胁迫; 保护酶; 贝壳堤岛; 黄河三角洲

文献标识码: A

文章编号: 1000-288X(2010)01-0085-04

中图分类号: Q945.79

Responses on Salt Stress on Characteristics of Growth and Protective Enzymes of *Limonium Bicolor* in Shell Islands of the Yellow River Delta

LI Tian, LIU Qing, TIAN Jia-yi, SUN Jing-kuan

(Shandong Provincial Key Laboratory of Eco-Environmental Science for Yellow River Delta, Binzhou University, Binzhou, Shandong 256603, China)

Abstract: The effects of salt stress on the characteristics of growth and protective enzymes were studied using *Limonium bicolor* (Bunge) Kuntze. seedlings. Five treatments were arranged: 0, 50, 100, 200, and 300 mmol/L. Results showed that (1) At 100 and 200 mmol/L salt stress, the roots length and leaves number of *Limonium bicolor* were 1.3 and 1.67 times of those of the control, respectively. Fresh weight and dry weight of roots (leaves) were significantly higher than those of the control. Fresh weight of roots and dry weight of leaves were the highest at 100 mmol/L salt stress, which were 1.35 and 1.6 times of those of the control, respectively. At 300 mmol/L salt stress, roots length and leaves number were 0.78 times those of the control and fresh weight and dry weight of roots (leaves), 0.67(0.79) and 0.85(0.69) times of those of the control. The effects of salt stress on aboveground biomass were not significant. (2) With increased salt stress, the three protective enzyme activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), and catalase (CAT) of *Limonium bicolor* increased, which were the highest at 300 mmol/L salt stress and were 2.12, 1.83 and 2.57 times those of the control. The content of malondialdehyde (MDA) was 1.6 times of that of the control at 300 mmol/L salt stress. (3) The preliminary result showed that *Limonium bicolor* was a strong salt-tolerance plant and could grow at the salt concentration of 300 mmol/L.

Keywords: *Limonium bicolor*; growth; salt stress; protective enzyme; Shell Island; the Yellow River Delta

收稿日期: 2009-06-21

修回日期: 2009-08-27

资助项目: 山东省自然科学基金“山东沿岸贝壳堤脆弱生态系统退化机理与恢复技术”(Y2006D01; Y2008D52); 滨州学院青年人才创新工程(BZXYQNLG200827)

作者简介: 李田(1980—), 女(汉族), 山东省泰安市人, 硕士, 研究方向为植物生理生态、环境生态。E-mail: 912litian@163.com。

通信作者: 孙景宽(1980—), 男(汉族), 山东省成武县人, 硕士, 讲师, 研究方向为植物生理生态、环境生态。E-mail: sunjingkuan@126.com。

黄河三角洲的无棣、沾化海岸在近五六千年以来成陆过程中形成的贝壳堤岛,无论是从其沉淀规模、动态类型,还是从所含环境信息等方面来讲,都属于西太平洋各边缘海之罕见,与美国圣路易斯安娜州和南美苏里南的贝壳堤并称为世界三大古贝壳堤,而且是世界上规模最大,惟一的新老并存的贝壳堤^[1]。该地区既是东北亚内陆和环西太平洋鸟类迁徙的中转站和越冬、栖息、繁殖地,也是研究黄河变迁,海岸线变化,贝壳堤岛形成等环境演变以及湿地类型的重要基地,在我国海洋地质、生物多样性和湿地类型研究中有举足轻重的地位和保护价值^[2]。

近 20 多年来,由于平岛挖沙,乱砍滥伐等人类活动和自然灾害的影响,贝壳堤岛脆弱生态系统受到严重破坏,主要表现在面积锐减,生物多样性降低。由此可见,黄河三角洲贝壳堤岛植被恢复工作迫在眉睫。干旱和盐渍化是限制黄河三角洲贝壳堤岛植被恢复的重要因素,筛选抗旱、耐盐的植物种类是进行恢复的前提。

二色补血草 [*Limonium bicolor* (Bunge) Kuntze)] 是黄河三角洲贝壳堤岛上生长的优势草本植物。目前对二色补血草的研究主要集中在栽培技术和药用机理,对其耐盐性研究虽然也有一些报道^[3-4],但其耐盐能力并不清晰。本文通过设定盐分梯度,研究其生长特性和保护酶系统对盐胁迫的响应,以明确其耐盐能力,这对修复及保护这一独特脆弱的生态系统,实现可持续发展具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料与处理

二色补血草种子于 2007 年采自滨州贝壳堤岛与湿地国家级自然保护区,自然风干后,选取饱满、大小均匀的种子,于 4 °C 低温保存。于 2008 年 3 月进行播种。种子经 0.1% HgCl₂ 消毒 10 min,蒸馏水冲洗数次,播种于装有贝壳沙的塑料盆(盆高 20 cm,直径 18 cm)中,贝壳沙含盐量 0.05%。每盆播种 10 粒,共播种 30 盆。于山东省黄河三角洲生态环境重点实验室数控温室培养,自然光照,昼夜温度分别为 (25 ± 1) °C 和 (15 ± 1) °C,相对湿度为 (50 ± 5) %。每隔 7 d 灌溉 1 次 1/2 Hoagland's 营养液,待出苗后,每盆定苗 1 株,定期浇水。

播种 30 d 后,二色补血草真叶 2~ 3 片。选取长势一致的二色补血草幼苗,开始盐胁迫处理。共设 4 个盐处理组(50, 100, 200, 300 mmol/L NaCl)和 1 个对照组(0 mmol/L NaCl),每一处理 6 个重复。盐处理液为 1/2 Hoagland's 营养液(pH 值为 6)和分析纯

NaCl 配制的不同浓度的盐溶液。为避免盐冲击效应,盐浓度每天递增 50 mmol/L,直至各处理预定浓度。同时,对照组浇灌等量的 1/2 Hoagland's 营养液。以后每隔 3 d 灌溉一次相应浓度的处理液,使大量处理液从盆底渗出,以交换基质中以前的积余盐,避免盐分累积,保证处理期间基质盐浓度在最小范围内波动。盐胁迫时间从首次灌溉盐溶液之日算起。

1.2 测定内容与方法

在胁迫 30 d 后选取同一位置健康完全展开的叶片,将其剪碎,从中称取一定量的叶片对相关指标进行测定,每一指标的测定重复 3 次。

(1) 保护酶的提取。取 0.3 g 叶片切段,置于预冷的研钵中,加适量的预冷的 50 mmol/L 磷酸缓冲液(含 1% PVP, pH 值 7)及少量石英砂,在冰浴中研磨成匀浆,将匀浆液全部转入到 15 ml 离心管中,于 2 °C~ 4 °C, 12 000 g 离心 20 min,上清液转入 25 ml 容量瓶中,沉淀用 5 ml 磷酸缓冲液再提取 2 次,上清液并入容量瓶中,定容到刻度,4 °C 下保存备用^[5]。SOD 的测定以抑制 NBT 光化还原 50% 为一个酶活性单位表示^[6]。POD 的测定用愈创木酚染色法,以每 min 内 A₄₇₀ 变化 0.01 为一个过氧化物酶活性单位^[6]。CAT 的测定用紫外吸收法,以 1 min 内 A₂₄₀ 减少 0.1 的酶量为一个酶活性单位(鲜重)^[7]。

(2) 丙二醛(MDA)的提取。取叶片 0.2 g,加入 10% TCA 2.0 ml 和少量石英砂,研磨,转移到离心管中,控制在 10 ml 以内,4 000 g 离心 10 min,定容到 10 ml。即为样品提取液。MDA 测定和计算按照张志良等^[6]的方法。

(3) 生物量的测定。将二色补血草从盆中挖出,冲洗干净,分别测量根长和叶片数;用吸水纸吸干水后,将根、叶分离,称量根、叶鲜重。将分离的根、叶材料放入烘箱内 105 °C 杀青 15 min,85 °C 烘干至恒重,称干重。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对二色补血草幼苗根长和叶片数的影响

盐胁迫对二色补血草幼苗根长和叶片数影响见表 1。从表 1 中可以看出,随着盐浓度的增高,二色补血草的根长和叶片数先增高后降低,变化趋势呈开口向下的抛物线。50 mmol/L 盐浓度下,根长及叶片数和对照(0 mmol/L)差异不显著。当盐浓度为 100 mmol/L 时,根长和叶片数均显著高于对照,分别为对照的 1.3, 1.67 倍;盐浓度为 200 mmol/L 时,根长和 100 mmol/L 的根长差异不显著,叶片数为 100 mmol/L 的 0.86 倍,差异显著;300 mmol/L 盐浓度下,根长和叶片数均为对照的 0.78 倍。说明虽然

高浓度盐分对根长和叶片数产生了抑制作用, 但二色补血草仍然具有较强的抵抗盐胁迫的能力。

表 1 盐胁迫对二色补血草生长特性的影响

NaCl 水平/ (mmol · L ⁻¹)	0	50	100	200	300
根长/cm	23b	25b	30a	29a	18d
叶片数/片	9b	10b	15a	13b	7c
根鲜重/g	17.2b	18.8b	25.2a	23.3b	11.5c
根干重/g	3.9b	4.5b	6.8a	6.2a	3.3c
叶鲜重/g	8.1b	10.5b	12.9a	11.3a	6.4c
叶干重/g	1.6c	2.1b	2.6a	2.2b	1.1d

注: 表中同行各处理结果间标有不同字母者为 5% 水平差异显著, 下同。

2.2 盐胁迫对二色补血草根和叶鲜重、干重的影响

从表 1 可以看出, 50 mmol/L 盐浓度二色补血草幼苗整株鲜重与干重和对照差异不显著; 100, 200 mmol/L 盐胁迫下显著高于对照, 100 mmol/L 盐浓度下根鲜重和叶干重最高, 分别为对照的 1.35, 1.6 倍, 根鲜重和叶干重在 100, 200 mmol/L 2 个盐浓度下差异不显著; 300 mmol/L 盐浓度下, 鲜重和干重显著低于对照。地下和地上生物量受盐胁迫的抑制程度大小不明显。

2.3 盐胁迫对二色补血草叶片保护酶的影响

SOD, POD, CAT 是植物体内清除自由基的重要保护酶^[8]。SOD 能将 O₂⁻ 清除氧化成 H₂O₂ 和 O₂, POD, CAT 能将 H₂O₂ 转变为 H₂O 和 O₂^[9]。由图 1 可以看出, 随着盐浓度的增加, 二色补血草叶片中 SOD 活性呈上升趋势, 当 NaCl 溶液浓度为 50 mmol/L 时, SOD 活性和对照差异不显著; 当 NaCl 溶液浓度增大至 100 mmol/L 时, SOD 活性显著高于对照 (1.46 倍); 100 mmol/L 和 200 mmol/L 时, SOD 活性差异不显著; 在盐浓度为 300 mmol/L 时, SOD 活性最大 (2.12 倍)。说明盐浓度可显著提高二色补血草幼苗叶片中 SOD 活性。

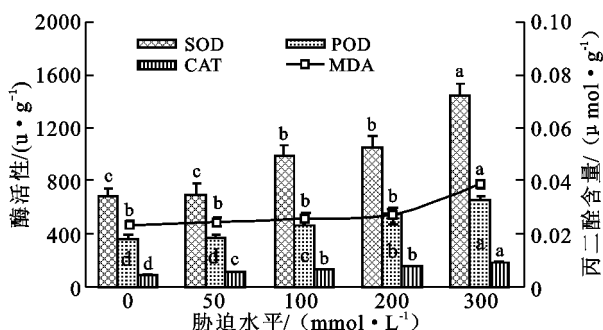


图 1 二色补血草叶片中 SOD, POD, CAT 活性及 MDA 含量对盐胁迫的响应

随着盐胁迫的加重, 二色补血草幼苗叶片中 POD 的活性呈上升趋势, 50 mmol/L 盐胁迫下, POD 活性与对照差异不显著; 盐胁迫达到 100 ~ 300 mmol/L 时, POD 活性显著升高, 分别为对照的 1.31, 1.55, 1.83 倍。这表明, 随着盐浓度的增加, 不仅 SOD 催化产生的 H₂O₂ 的能力在加强, POD 转化 H₂O₂ 的能力也在加强, 300 mmol/L 盐浓度下, POD 比对照的增加幅度小于 SOD。

二色补血草幼苗叶片中 CAT 的活性随着 NaCl 胁迫的增大, 呈现出上升趋势。NaCl 溶液浓度为 50 mmol/L 时, 其 CAT 活性显著高于对照, 说明低盐胁迫就已能明显提高 CAT 活性。当盐胁迫为 300 mmol/L 时, CAT 活性最高, 为对照 2.57 倍, CAT 比对照的增加幅度大于 SOD 和 POD。说明高盐胁迫下 CAT 仍具有较强的清除活性氧的能力。

2.4 盐胁迫对二色补血草叶片丙二醛的影响

MDA 是膜脂过氧化作用的最终产物, 是膜系统受伤害的重要标志之一, MDA 积累越多表明组织的保护能力越弱^[10]。从图 1 可以看出, 在盐胁迫为 50, 100, 200 mmol/L 时, 其 MDA 含量和对照差异不显著, 说明低浓度盐胁迫 (< 200 mmol/L) 下, 二色补血草叶片没有受到膜质过氧化伤害, 这可能和保护酶具有较高的活性有关。在盐胁迫为 300 mmol/L 时, MDA 含量明显升高, 为对照的 1.6 倍, 说明重度盐胁迫下, 二色补血草叶片受到膜质过氧化伤害。

3 结论

植物生长是许多生理过程综合作用的结果, 生长基质中过高的盐浓度则会对植物产生渗透胁迫和离子毒害, 进而作用于植物的各个生理过程, 最终影响到植物的生长^[11-12]。本研究表明, 一定浓度的盐胁迫 (100 mmol/L) 对二色补血草的根长和叶片数具有促进作用, 分别为对照的 1.3, 1.67 倍; 高浓度盐胁迫 (300 mmol/L) 下, 根长和叶片数虽然有所下降, 但均为对照的 0.78 倍, 说明二色补血草根长和叶片数受盐胁迫的影响较小。植物根部吸收的 Na⁺ 和 Cl⁻ 会随着蒸腾流向地上部分运输, 并在叶中积累, 因此盐胁迫不但影响根的生长, 植物体的地上部分同样受到抑制, 甚至对地上部分生长的抑制大于对地下部分的抑制^[13]。据 Ungar^[14] 报道, 在几百 mmol 的 NaCl 胁迫下, 很多植物能够在叶片和茎中积累其干重百分之几的 NaCl, 而根中甚至不到 1/100。因此, 叶片中高浓度的 Na⁺ 和 Cl⁻ 可能是抑制叶片生长的关键因素。高盐胁迫 (300 mmol/L) 下, 二色补血草根、叶的鲜重和干重显著低于对照, 但地下、地上生物量受盐胁迫

的抑制程度大小不明显,这可能是大量的 Na^+ 和 Cl^- 离子被植物排出体外,没有叶中积累。虽然盐胁迫下植物生长受到抑制的具体原因尚不清楚,但是已有 3 种生理机制被提出: 分生组织细胞膨压的减小; 光合作用的降低; 成长细胞中特异性的离子毒害^[15]。Munns^[16] 则认为盐胁迫对植物生长的抑制分为两个阶段: 第一阶段中植物生长受到的抑制主要由于土壤中的低水势引起; 第二阶段中则主要由离子毒害造成。

超氧化物歧化酶(SOD)一直被认为是生物体内最重要的抗氧化酶之一,它可以歧化超氧化物阴离子自由基为 O_2 和 H_2O_2 , 从而有效地降低了活性氧自由基对膜系统的伤害。SOD 在清除氧自由基时也会产生对植物体不利的 H_2O_2 , 而 POD, CAT 等保护酶能将过量的 H_2O_2 及时清除,三者协同作用能有效的防止植物体内的膜脂过氧化^[17]。本研究发现,随着盐胁迫的加剧,二色补血草叶片中 SOD, POD, CAT 这 3 种保护酶活性均呈上升趋势,在盐浓度为 300 mmol/L 时活性最大,分别为对照的 2.12, 1.83, 2.57 倍,这 3 种保护酶变化趋势相同,这可能和它们是协同保护酶有关^[18]。虽然 3 种保护酶对盐胁迫表现出积极的缓解响应,但高浓度盐胁迫(300 mmol/L)下,MDA 含量升高,为对照的 1.6 倍,说明高浓度盐胁迫引起了一定程度的膜质过氧化。

从上述研究结果可以初步判定二色补血草具有较强的耐盐性,可以在盐浓度 300 mmol/L 以下的环境中生长。

[参 考 文 献]

- [1] 潘怀剑, 田家怡, 谷奉天. 黄河三角洲贝壳海岛与植物多样性保护[J]. 海洋环境科学, 2001, 20(3): 54-59.
- [2] 山东省科学技术委员会. 山东省海岛志[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1995.
- [3] 于德花. NaCl 胁迫对二色补血草种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 华中师范大学学报: 自然科学版, 2008, 42(3): 435-439.
- [4] 周俊山, 史功伟, 张艳, 等. 盐胁迫对二色补血草光合作用的影响[J]. 山东师范大学学报: 自然科学版, 2007, 22(1): 125-127.
- [5] 李柏林, 梅慧生. 燕麦叶片衰老与活性氧代谢的关系[J]. 植物生理学报, 1989, 15(1): 6-12.
- [6] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003.
- [7] Trevor E, Kraus R, Austin F. Paclobutrazol protects wheat seedlings from heat and paraquat injury is detoxification of active oxygen involved[J]. Plant Cell Physiol., 1994, 35(1): 45-52.
- [8] Noctor G, Foyer C H. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1998, 49(1): 249-279.
- [9] Chaitanya K V, Sundar D, Masilamani S, et al. Variation in heat stress-induced antioxidant enzyme activities among three mulberry cultivars[J]. Plant Growth Regulation, 2002, 36(2): 175-180.
- [10] 孙国荣, 彭永臻, 阎秀峰, 等. 干旱胁迫对白桦实生苗保护酶活性及脂质过氧化作用的影响[J]. 林业科学, 2003, 39(1): 165-167.
- [11] Garg B K, Gupta I C. Saline Wastelands Environment and Plant Growth[M]. Jodhpur, India: Scientific Publishers, 1997.
- [12] Mer R K, Prajith P K, Pandya D H, et al. Effect of salts on germination of seeds and growth of young plants of *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*, *Cicer arietinum* and *Brassica juncea*[J]. J Agron. Crop Sci., 2000, 185(4): 209-217.
- [13] Ramoliya P J, Pandey A N. Effect of salinization of soil on emergence, growth and survival of seedlings of *Cordia rothii*[J]. For Ecol Manage, 2003, 176(1): 185-194.
- [14] Ungar I A. Ecophysiology of Vascular Halophytes[M]. Boca Raton: CRC Press, 1991.
- [15] Neumann P. Salinity resistance and plant growth revisited[J]. Plant Cell & Env, 1997, 20(9): 1193-1198.
- [16] Munns R, Termaat A. Whole-plant response to salinity[J]. Aust. J. Plant Physiol., 1986, 13(1): 143-160.
- [17] McCord J M, Fridovich I. Superoxide dismutase: An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein)[J]. J. Biol. Chem., 1969, 244(22): 6049-6055.
- [18] 孙存华, 李扬, 贺鸿雁, 等. 藜对干旱胁迫的生理生化反应[J]. 生态学报, 2005, 25(10): 2556-2561.