

混合盐胁迫对急性子萌发生理活性的影响

邵玫钰 孙静漪 王辉 吴越程 季天智 陈灿宇 袁强 睢宁

浙江中医药大学药学院 杭州 310053

摘要:[目的]研究不同浓度混合盐胁迫对急性子萌发的影响,明确种子萌发阶段对盐胁迫的耐受性。[方法]采用水培法,用不同浓度混合盐溶液处理急性子,根据 NaCl:Na₂SO₄:NaHCO₃=1:1:1 的比例,分别配置对照组(0%)、轻度组(0.3%)、中度组(0.6%)、重度组(0.9%)4 个浓度梯度,测定其发芽率、发芽势、发芽指数等植物发芽系数指标;测定含水量、总芽长以及过氧化物酶(peroxidase,POD)活性、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)活性、植物丙二醛(malondialdehyde,MDA)含量、可溶性糖含量、可溶性蛋白含量等植物生理活性指标。[结果]在不同浓度混合盐胁迫下,急性子的萌发均被抑制。急性子的发芽率、发芽势、发芽指数、含水量都随着盐浓度的增加显著降低($P<0.05$, $P<0.01$),总芽长受到抑制($P<0.01$);萌发过程中 POD、SOD 活性以及超氧阴离子产生速率均随着浓度升高而升高($P<0.05$, $P<0.01$);可溶性蛋白、可溶性糖含量随着盐浓度升高而降低,其中可溶性蛋白含量差异有统计学意义($P<0.01$)。简单相关分析提示,盐浓度与含水量呈负相关($r=-0.9660$, $P<0.05$),与 SOD 活性、超氧阴离子产生速率呈正相关($r=0.9735$, $r=0.9806$, $P<0.05$)。[结论]混合盐胁迫对急性子萌发有显著的抑制作用,急性子对重度混合盐胁迫较敏感,对轻度有一定耐受性。

关键词:急性子;盐胁迫;种子萌发;发芽指数;生理活性;POD;SOD;MDA

中图分类号:R282.2 文献标识码:A 文章编号:1005-5509(2021)05-0433-08

DOI: 10.16466/j.issn1005-5509.2021.05.001

Effect of Mixed Salt Stress on Physiological Activity of Seeds Germination of *Impatiens Balsamina* L. SHAO Meiyu, SUN Jingyi, WANG Hui, et al College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou(310053), China

Abstract:[Objective]To clarify the effects of different concentrations of mixed salt stress on the germination of seeds of *Impatiens balsamina* L. and the tolerance of seeds to salt stress in germination stage.[Methods]*Impatiens balsamina* L. were treated with different concentrations of mixed salt, four groups were respectively allocated, including control group(0%), mild group(0.3%), moderate group(0.6%) and severe group(0.9%) according to the mixture ratio NaCl:Na₂SO₄:NaHCO₃=1:1:1. Hydroponic method was used to determine the germination rate, germination potential, germination index and other plant germination coefficient indexes; determine water content, total bud length and peroxidase(POD) activity, superoxide dismutase(SOD) activity, malondialdehyde(MDA) content, soluble sugar content, soluble protein content and other plant physiological activity indexes.[Results]Under different mixed salt concentration stress, the germination of *Impatiens balsamina* L. was inhibited to varying degrees. The germination rate, germination potential, germination index and water content of the tested *Impatiens balsamina* L. decreased significantly with the increase of salt concentration($P<0.05$, $P<0.01$), and the total bud length was inhibited($P<0.01$); the POD activity, SOD activity and superoxide anion production rate increased with the increase of concentration during germination($P<0.05$, $P<0.01$). The content of soluble protein and soluble sugar decreased with the increase of salt concentration, the difference in the content of soluble protein was statistically significant($P<0.01$). Simple correlation analysis showed that salt concentration was negatively correlated with water content($r=-0.9660$, $P<0.05$), and positively correlated with SOD activity and superoxide anion production rate($r=0.9735$, $r=0.9806$, $P<0.05$).[Conclusion] Mixed salt stress has a significant inhibitory effect on *Impatiens Balsamina* L. During *Impatiens balsamina* L. germination, it's more sensitive to high concentration(0.9%) mixed salt stress and has a certain tolerance to low concentration(0.3%).

Key words: seeds of *Impatiens balsamina* L.; salty stress; seed germination; germination index; physiological activity; POD; SOD; MDA

急性子为凤仙花科植物凤仙花(*Impatiens balsamina* L.)的干燥成熟种子,具有破血、软坚、消积的作用,临床上多用于癥瘕痞块、经闭、噎膈等症^[1]。现代临床治疗食管癌吞咽困难常以芍药甘草汤为主方,其中正是以威灵仙、急性子等软坚散结^[2]。凤仙花为常见的园林花卉,在我国各地庭院广泛栽培,急性子具有较强的土壤适应性和抗逆性,栽培管理方便^[3-4],但目前土壤盐碱化现象日益严重,对植物生长造成较严

重的影响。本研究探讨不同混合盐胁迫对急性子种子萌发生理活性的影响,确定急性子能够生长的盐浓度,为急性子在盐碱土壤中栽培提供理论依据。

种子是植物体中含水量最低的器官,为种子提供水分是植物生长的第一步,种子萌发过程中的水分情况、生理生化指标与其生命征象密切相关^[5]。混合盐对植物有水分胁迫和离子毒性,而水分胁迫与种子萌发过程中的呼吸作用也有密切关系^[6],从而影响种子

基金项目:国家自然科学基金项目(81603222);中国博士后科学基金资助项目(2017M610378);浙江省博士后科研择优资助项目(浙人社发[2016]73号);浙江中医药大学校级教育教学改革项目(ZB18005);宁波工程学院象山研究院科技项目(211807014)

Fund projects: National Natural Science Foundation Project(81603222); China Post-doctoral Scientist Foundation Project(2017M610378); Zhejiang Province Post-doctoral Scientist Foundation(Z.R.S.F. [2016]73); Zhejiang Chinese Medical University Education and Teaching Reform Project(ZB18005); Science and Technology Project of Xiangshan Research Institute of Ningbo University of Technology(211807014)

通讯作者:睢宁,E-mail: suining_leo@163.com

萌发。种子是种子植物所特有的延存器官,急性子为凤仙花的干燥成熟种子,了解急性子萌发过程中的生理生化变化,就能更好地提高其萌发率和田间出苗整齐度^[7]。

盐类是植物生长代谢过程中的必需物质,但是过量的盐分会改变细胞的渗透势,影响植物对水分的吸收,从而造成植物体的生理干旱,降低植物生物量的积累^[8]。盐胁迫是影响种子生长、降低产量的主要环境问题之一^[9],因此本实验以急性子为研究对象,考察不同浓度混合盐胁迫对种子萌发生理活性的影响,阐明急性子的耐盐机制,为今后急性子栽培的土壤选择、范围扩展以及科学栽培提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料和试剂 急性子为凤仙花科植物凤仙花(*Impatiens balsamina* L.)的干燥成熟种子,购于浙江磐安。无水乙醇购于天津市科密欧化学试剂有限公司(批号:20160414);硫酸购于西陇科学股份有限公司(批号:1610091);葡萄糖购于上海强顺化学试剂有限公司(批号:20141211);间苯二酚购于上海麦克林生化科技有限公司(批号:C10102717);牛血清蛋白购于浙江天杭生物科技股份有限公司(批号:20161207);葱酮购于上海展云化工有限公司(批号:160115);四唑氮蓝购于杭州昊天生物技术有限公司(批号:3068B512);植物丙二醛(malondialdehyde, MDA)检测试剂盒购于南京建成生物工程所(批号:20171103)。

1.2 主要仪器 AR224CN电子天平购于奥豪斯仪器(上海)有限公司;KQ2200DA型数控超声波清洗器购于昆山市超声仪器有限公司;Synergy H1多功能酶标仪为美国博腾公司产品;Spectrumlab 22PC紫外分光光度计为上海棱光技术有限公司产品。

1.3 方法

1.3.1 种子处理及发芽 采用培养皿发芽法。挑选大小相近、饱满、无虫蛀的急性子,次氯酸钠消毒后,播种于垫有2层定性滤纸的培养皿中,设置不同的浓度梯度,每个浓度梯度100粒种子,3次重复。氯化钠、硫酸钠、碳酸氢钠3种盐等摩尔混合,根据添加混合盐的量不同,设置对照组(0%)、轻度组(0.3%)、中度组(0.6%)、重度组(0.9%)分别进行盐胁迫处理。将培养皿放入组培室,在25℃、80%湿度条件下发芽12d,期间每天观察并记录急性子的萌发情况,并计算发芽

率、发芽势、发芽指数等指标。相关指标的计算公式如下:发芽率(%)=(正常发芽的种子数/供试种子总数)×100%;相对发芽率(%)=(处理组发芽率/对照组发芽率)×100%;发芽势(%)=(第6天正常发芽种子数/供试种子总数)×100%;发芽指数(G_i)= $\sum G_i/D_i$,式中 G_i 为不同培养时间(t)的发芽种子数, D_i 为相应的培养时间;相对盐害率(%)=(对照组发芽率-处理组发芽率)/对照组发芽率×100%。

1.3.2 急性子生理生化指标的测定 称取籽粒饱满、无病虫害的目标种子5g,进行消毒灭菌处理后,分别放入对照组、轻度组、中度组和重度组盐溶液中,置于25℃的培养箱,拍照并记录第0、2、4、6、8天种子萌发的形态变化,测量其含水量,参照《植物生理学实验》的方法测定过氧化物酶(peroxidase, POD)活性^{[9]45}、超氧化物的方法歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性^{[9]42},采用羟胺氧化法测定超氧阴离子产生速率^{[9]37},用植物MDA检测试剂盒测定MDA含量,采用双缩脲法测定可溶性蛋白含量,采用葱酮比色法测定可溶性糖含量^[10]。

1.4 统计学分析 运用Microsoft Excel进行计算及绘图,采用SPSS 17.0统计软件进行统计学分析。计量资料若符合正态分布且满足方差齐性,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间均数比较采用两因素方差分析,组间两两比较采用邓肯新复极差法(sum of squares due to regression, SSR)法。各组指标的相关性采用Pearson简单相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组急性子发芽情况比较 混合盐处理对急性子发芽的影响显著,其中中度、重度盐处理与对照处理相比,显著降低急性子的发芽率、发芽势、发芽指数($P < 0.01$),且显著提高相对盐害率($P < 0.01$);轻度盐处理相较对照组,仅显著减低发芽势和发芽指数($P < 0.01$),对发芽率和相对盐害率影响不显著($P > 0.05$)。不同盐处理之间比较,发芽率和相对盐害率差异达到极显著水平($P < 0.01$),随着盐害水平的增加,发芽率显著降低,相对盐害率显著提高。在发芽指数方面,中度组和重度组与轻度组相比,降低程度分别达到显著($P < 0.05$)和极显著水平($P < 0.01$)。不同盐分处理之间比较,发芽势差异无统计学意义($P > 0.05$)。由此可见轻度混合盐对急性子萌发无明显影响,高浓度混合盐的相对盐害率高达97.30%,对急性子萌发有明显

的抑制作用,且随着浓度的增高,对种子萌发抑制作用增强。见表1。

2.2 各组急性子总芽长比较 混合盐处理对急性子总芽长影响显著,除第2天的轻度组与对照组比较总芽长降低显著($P<0.05$),其他各处理组与相同时点对对照组相比,总芽长降低极显著($P<0.01$)。同一时点内,

各组间总体比较差异极显著($P<0.01$),但轻、中、重度组盐分处理两两比较,除第6天外,总芽长无显著性差异($P>0.05$)。第6天时,中度组、重度组与轻度组相比,总芽长显著降低($P<0.05$)。同一组内,随着处理时间的延长,总芽长显著增加($P<0.01$)。可见混合盐对急性子总芽长有一定抑制作用。见表2。

表1 不同混合盐处理下急性子发芽情况比较

Tab.1 Comparison of seeds of *Impatiens balsamina* L. germination under different mixed salt concentration treatments

组别	发芽率(%)	发芽势(%)	发芽指数	相对盐害率(%)
对照组	82.00	82.00	20.50	0.00
轻度组	82.33	4.30**	7.58**	-1.70
中度组	37.66***	0.00**	3.14***	53.30***
重度组	2.00*** ^Δ	0.00**	0.17***	97.30*** ^{ΔΔ}
F 值	96.948	139.412	105.039	114.597
P 值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注:与对照组比较,** $P<0.01$;与轻度组比较,* $P<0.05$,*** $P<0.01$;与中度组比较,^Δ $P<0.01$

Note: Compared with control group,** $P<0.01$; compared with mild group,* $P<0.05$,*** $P<0.01$; compared with moderate group,^Δ $P<0.01$

表2 不同混合盐处理下急性子总芽长比较($\bar{x}\pm s$,cm)

Tab.2 Comparison of the total bud length of *Impatiens balsamina* L. under different mixed salt concentration treatments($\bar{x}\pm s$,cm)

组别	总芽长				F 值	P 值
	第 2 天	第 4 天	第 6 天	第 8 天		
对照组	0.417±0.029	3.067±0.764	8.133±0.551	9.067±2.768	28.652	<0.01
轻度组	0.367±0.029*	1.067±0.252**	1.367±0.252**	2.800±0.229**	80.170	<0.01
中度组	0.317±0.029**	0.683±0.029**	0.600±0.050***	0.883±0.257**	10.656	<0.01
重度组	0.317±0.029**	0.483±0.029**	0.550±0.087***	0.433±0.029**	13.094	<0.01
F 值	11.000	31.149	434.324	24.129		
P 值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01		

注:与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与轻度组比较,* $P<0.05$

Note: Compared with control group,* $P<0.05$,** $P<0.01$; compared with mild group,* $P<0.05$

2.3 各组急性子萌发过程含水量比较 种子萌发过程中含水量的变化反映了种子的吸水能力。混合盐处理对急性子含水量影响显著($P<0.01$)。第2天时,中度组和重度组与对照组相比,降低程度分别达到显著($P<0.05$)和极显著水平($P<0.01$),但轻度组与对照组相比,没有统计学差异($P>0.05$)。此后几天,各处理组与对照组相比,降低程度均达到极显著性水平($P<0.01$);其中第8天时,中度组、重度组与轻度组相比,也显著降低($P<0.01$),但中、重度组之间无统计学差异($P>0.05$)。而随着处理时间的延长,急性子萌发过程中含水量不断升高,除重度组外,其余各组含水量

随着时间延长均显著增加($P<0.01$)。萌发第8天时,对照组急性子含水量接近90%,而中、重度组种子含水量仍然只有40%~50%。萌发过程中对照组处理平均含水量为61.19%,中、重度组平均含水量分别为44.27%、42.48%,可见高浓度对急性子吸水能力有显著抑制作用。见表3。

2.4 各组急性子POD活性比较 混合盐处理对急性子POD活性的影响显著,不同浓度混合盐处理下急性子POD活性总体呈现上升的趋势。第4、8天盐浓度各处理组间POD活性差异显著($P<0.05$),第6天POD活性差异极显著($P<0.01$)。不同处理时间比较,同一组

表3 各组急性子萌发过程中的含水量比较(%)

Tab.3 Comparison of water content during *Impatiens balsamina* L. germination in each group(%)

组别	含水量				F 值	P 值
	第 2 天	第 4 天	第 6 天	第 8 天		
对照组	44.24	57.16	78.29	89.38	59.220	<0.01
轻度组	42.73	48.35**	62.59**	69.28**	30.326	<0.01
中度组	42.09*	46.19**	47.30**#	48.92**##	31.117	<0.01
重度组	40.85**#	44.43**	46.08**##	44.21**##	3.484	>0.05
F 值	9.875	13.342	26.578	72.514		
P 值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01		

注:与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与轻度组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$

Note: Compared with control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; compared with mild group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$

内POD活性呈降低趋势,其中对照组差异有统计学意义($P<0.01$),其余各组差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表4。对照组与轻度组萌发过程中平均POD活性分别为 $0.060\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $0.056\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$,差异无统计学意义($P>0.05$);而重度组平均POD活性最高,为 $0.115\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$,与对照组相比升高了 $0.055\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 。由此可见,低浓度对急性子POD活性影响不显著,高浓度混合盐显著升高急性子POD活性。

2.5 各组急性子SOD活性比较 不同浓度混合盐胁迫下,SOD活性总体呈上升趋势,但总体比较混合盐浓度对急性子SOD活性影响不显著($P>0.05$)。但第4天时,中度组与对照组比较,SOD活性显著升高($P<0.05$);第6、8天中,与对照组比较,重度组SOD活性也显著升高($P<0.05$);轻度组与对照组比较均无统计学差异($P>0.05$)。但随着处理时间延长,各组SOD活性变化不显著($P>0.05$)。见表5。萌发过程中平均SOD活

性水平最低的是对照组,为 $132.169\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$;而0.9%浓度处理组平均SOD活性可达 $144.685\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 。由此可见,高浓度对急性子SOD活性有升高作用。

2.6 各组急性子MDA含量比较 混合盐处理对急性子MDA含量的影响不显著($P>0.05$)。相同处理时间内,与对照组比较,各处理组急性子MDA含量升高不显著($P>0.05$)。随着时间的延长,各组急性子MDA含量呈现连续下降趋势,但差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表6。

2.7 各组急性子超氧阴离子产生速率比较 不同浓度混合盐胁迫下,只有第8天时多组间总体比较急性子超氧阴离子产生速率变化差异极显著($P<0.01$)。第8天时,与对照组比较,中、重度组超氧阴离子产生速率显著升高($P<0.01$),但轻度组变化不显著($P>0.05$)。而随着时间的延长,对照组和轻度组急性子超氧阴离子产生速率大体呈下降的趋势。随着时间的延长,对

表4 各组急性子POD活性比较($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)Tab.4 Comparison of *Impatiens balsamina* L. POD activity in each group($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)

组别	POD 活性				F 值	P 值
	第 2 天	第 4 天	第 6 天	第 8 天		
对照组	0.089	0.073	0.025	0.023	20.137	<0.01
轻度组	0.083	0.077	0.011	0.016	1.836	>0.05
中度组	0.202	0.099	0.086**#	0.064#	1.408	>0.05
重度组	0.157	0.138**	0.101**##	0.086**	4.378	>0.05
F 值	1.421	5.106	12.749	5.634		
P 值	>0.05	<0.05	<0.01	<0.05		

注:与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与轻度组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$

Note: Compared with control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; compared with mild group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$

表5 各组急性子SOD活性比较(U·g⁻¹)Tab.5 Comparison of *Impatiensis balsamina* L. SOD activity in each group(U·g⁻¹)

组别	SOD 活性				F 值	P 值
	第 2 天	第 4 天	第 6 天	第 8 天		
对照组	140.40	130.84	128.48	137.08	0.893	>0.05
轻度组	145.95	138.74	141.37	144.56	0.154	>0.05
中度组	137.77	151.56*	146.78	148.72	1.717	>0.05
重度组	146.78	149.06	151.35*	152.18*	0.728	>0.05
F 值	0.443	3.339	1.862	2.668		
P 值	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05		

注:与对照组比较,*P<0.05

Note: Compared with control group,*P<0.05

表6 各组急性子MDA含量比较(nmol·g⁻¹)Tab.6 Comparison of *Impatiensis balsamina* L. MDA activity in each group(nmol·g⁻¹)

组别	MDA 含量				F 值	P 值
	第 2 天	第 4 天	第 6 天	第 8 天		
对照组	183.33	135.19	127.04	116.30	3.161	>0.05
轻度组	184.44	130.00	142.22	90.74	2.833	>0.05
中度组	231.85	137.78	155.19	104.07	3.162	>0.05
重度组	238.89	187.78	214.44	191.11	0.255	>0.05
F 值	3.119	1.108	1.808	0.798		
P 值	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05		

照组急性子超氧阴离子产生速率总体呈现下降趋势,差异有统计学意义($P<0.05$);其他各处理组急性子超氧阴离子产生速率差异无统计学意义($P>0.05$)。见表7。随着混合盐浓度增加,萌发过程中平均超氧阴离子产生速率增加。对照组平均超氧阴离子产生速率处于较低水平,为 $137.05\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$;而重度组平均超氧阴离子产生速率值可达 $219.13\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$,由此可见高浓盐胁迫会促进超氧阴离子产生。

2.8 各组急性子可溶性蛋白含量比较 混合盐处理对急性子可溶性蛋白含量影响显著。相同处理时点,中度组、重度组与对照组比较,急性子可溶性蛋白含量变化显著,其中第2天时,变化差异极显著($P<0.01$),第4天时,变化差异分别为显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$);轻度组与对照组比较,只有第8天显著降低($P<0.05$),其他时间点变化均不显著($P>0.05$)。而不同盐分处理之间,中、重度组与轻度组相比,变化程度大多达到极显著水平($P<0.01$)和显著水平($P<0.05$)。各组急性子可溶性蛋白的含量随着时间延长

显著下降($P<0.01$)。见表8。由此可见,低浓度混合盐处理对急性子可溶性蛋白含量无明显影响,但高浓度组对其有一定胁迫作用。

2.9 各组急性子可溶性糖含量比较 混合盐处理对急性子可溶性糖含量的无显著影响。随着混合盐浓度升高,萌发过程中可溶性糖含量呈降低趋势,但组间差异无统计学意义($P>0.05$)。但第4天时,重度组急性子可溶性糖含量与对照组、轻度组、中度组比较显著降低($P<0.05$)。随着时间的延长,急性子可溶性糖含量大致呈上升趋势,其中对照组随不同时间变化差异显著($P<0.05$),重度组随不同时间变化差异极显著($P<0.01$)。见表9。对照组萌发过程中平均可溶性糖含量最高,达 $0.047\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;重度组平均可溶性糖含量最低,为 $0.041\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,由此可见,混合盐对急性子可溶性糖含量有一定抑制作用。

2.10 各组急性子指标相关性分析 对各组指标的平均值进行变量间简单相关分析。盐浓度与含水量($r=-0.9660$)呈负相关($P<0.05$);与SOD活性($r=0.9735$)、

超氧阴离子产生速率($r=0.9806$)呈正相关($P<0.05$)。盐浓度与发芽率($r=-0.9466$)、总芽长($r=-0.8722$)、可溶性蛋白($r=-0.4531$)、可溶性糖($r=-0.9322$)呈负相关,但相关性不显著($P>0.05$);与POD活性($r=0.9026$)、MDA含量($r=0.8776$)呈正相关,但相关性不显著($P>0.05$)。

表7 各组急性子超氧阴离子产生速率比较[$\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$]Tab.7 Comparison of the rate of O_2^- production in each group[$\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$]

组别	O_2^- 产生速率				F 值	P 值
	第 2 天	第 4 天	第 6 天	第 8 天		
对照组	159.172	140.854	156.971	38.395	7.958	<0.05
轻度组	170.822	172.376	151.663	79.431	1.758	>0.05
中度组	217.554	181.307	172.246	236.453 ^{***}	1.594	>0.05
重度组	268.686	227.780	190.757	218.589 ^{***}	0.993	>0.05
F 值	1.592	2.242	0.428	27.723		
P 值	>0.05	>0.05	>0.05	<0.01		

注:与对照组比较,^{**} $P<0.01$;与轻度组比较,^{##} $P<0.01$

Note: Compared with control group, ^{**} $P<0.01$; compared with mild group, ^{##} $P<0.01$

表8 各组急性子可溶性蛋白含量比较($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)Tab.8 Comparison of soluble protein content in each group($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

组别	可溶性蛋白含量				F 值	P 值
	第 2 天	第 4 天	第 6 天	第 8 天		
对照组	41.54	28.88	14.90	16.70	82.501	<0.01
轻度组	39.20	26.27	11.15	13.33 [*]	135.629	<0.01
中度组	31.98 ^{**##}	25.27 [*]	21.17 ^{##}	20.71 ^{##}	36.910	<0.01
重度组	29.30 ^{**##Δ}	24.98 ^{**}	20.41 [#]	17.65 ^{#Δ}	42.242	<0.01
F 值	66.745	7.283	7.022	12.062		
P 值	<0.01	<0.05	<0.05	<0.01		

注:与对照组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$;与轻度组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$;与中度组比较,^Δ $P<0.05$

Note: Compared with control group, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$; compared with mild group, [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$; compared with moderate group, ^Δ $P<0.05$

表9 各组急性子可溶性糖含量比较($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)Tab.9 Comparison of soluble sugar content in each group($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

组别	可溶性糖含量				F 值	P 值
	第 2 天	第 4 天	第 6 天	第 8 天		
对照组	0.0411	0.0455	0.0456	0.0642	7.106	<0.05
轻度组	0.0376	0.0436	0.0512	0.0616	4.243	>0.05
中度组	0.0369	0.0453	0.0496	0.0562	3.078	>0.05
重度组	0.0366	0.0363 ^{*Δ}	0.0474	0.0498	16.075	<0.01
F 值	0.991	4.756	0.122	1.733		
P 值	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05		

注:与对照组比较,^{*} $P<0.05$,;与轻度组比较,[#] $P<0.05$,;与中度组比较,^Δ $P<0.05$

Note: Compared with control group, ^{*} $P<0.05$; compared with mild group, [#] $P<0.05$; compared with moderate group, ^Δ $P<0.05$

3 讨论

3.1 不同浓度混合盐胁迫对种子萌发的影响 种子萌发阶段的耐盐状况在一定程度上反映了植物的耐盐程度, 可以作为耐盐植物早期选择与评价的指标^[11]。种子萌发期是其耐盐能力相对较弱的时期, 盐胁迫可减少种子水分吸收, 从而降低细胞渗透性, 改变种子新陈代谢能力^[12]。综合不同混合盐胁迫下急性子的发芽率、发芽势、发芽指数、相对盐害率, 结果表明混合盐浓度对急性子正常萌发有显著影响, 随着盐浓度升高, 急性子发芽活性受到抑制, 含水量持续降低。在高盐浓度(0.9%)条件下, 种子的发芽速率明显减慢, 含水量下降, 由此可知盐浓度可以影响植物细胞渗透调节, 混合盐浓度较高会阻碍细胞吸水, 破坏细胞膜的结构, 使细胞无法进行渗透调节, 从而导致细胞正常生命活动受到阻碍, 吸水能力下降, 种子难以发芽^[13]。

高浓度混合盐抑制急性子的萌发, 降低其发芽率; 轻度盐胁迫下的急性子发芽率与对照组比较差异无统计学意义, 但是发芽指数却显著低于对照组, 同时其总芽长也显著降低, 可能因为轻度混合盐溶液有杀菌消毒作用, 有利于急性子萌发, 但对种子活性没有促进作用。随着混合盐浓度增加, 对种子萌发的抑制作用逐渐加强, 浓度越高, 萌发时间越久, 生长速度越缓慢, 相对盐害率越大; 当盐浓度达0.9%时, 盐害率高达97.30%。由此可见, 急性子具有一定耐盐性, 混合盐浓度在一定范围内(<0.3%), 急性子可以正常发芽。

3.2 不同浓度混合盐胁迫对种子生理生化指标的影响 植物体内抗氧化酶系统包括POD、SOD、过氧化氢酶(catalase, CAT), 可以保护细胞膜, 使其免受活性氧(reactive oxygen species, ROS)或其他过氧化物自由基的伤害。POD具有很强的活性, 可以有效清除细胞内的过氧化氢, 起到保护植物细胞的作用^[14]。SOD与质膜损伤造成的种子劣变及种子耐贮性下降有密切关系, 能够防止种子劣变, 提高种子抗性^[15]。MDA是种子氧化应激反应过程中的产物, 影响着种子的质量^[16], 能够间接反映细胞损伤程度。可溶性蛋白为种子的发育及生长提供养料和能量, 调控着种子的代谢及生理生化过程, 在种子萌发、发育, 直到幼苗形成的过程中起到极为重要的作用^[17]。可溶性糖既是合成其他有机溶质的碳架来源, 又是渗透调节剂, 还可在细胞

内无机离子浓度高时起到保护酶类的作用^[15]。

POD和SOD活性测定结果提示, 短时间高浓度混合盐胁迫致使POD活性增加, 重度组POD活性高于对照组及轻度组。POD活性增高能够保护植物细胞, 混合盐浓度越高, POD活性越高; 但时间一长, 保护系统受到破坏, 则会抑制酶活性。本研究还发现, 种子发芽后, POD活性呈现降低趋势。SOD是需氧生物中普遍存在的一种酶, 能够清除超氧阴离子自由基。高浓度盐胁迫能够诱导SOD活性增强, 有效清除植株体内的ROS, 减少氧化伤害, 从而维持种子的萌发^[13]。本研究证实轻、中、重度混合盐处理组SOD活性高于对照组, 说明在盐胁迫下, SOD活性增高有利于消除种子内的ROS自由基和过氧化物。

在衰老或逆境条件下, 植物体内产生超氧阴离子并大量堆积, 对植物造成较大的伤害^[9]。本研究结果提示, 高浓度盐胁迫下, 种子产生超氧阴离子速率大于对照组, 证实细胞膜系统受到破坏。

MDA是细胞膜脂过氧化产物, 植物在盐胁迫下产生的大量ROS自由基会引起植物的膜脂过氧化, 造成MDA的积累, MDA含量可以直接反映种子受伤害的程度^[18]。本研究发现, 随着时间的延长, 对照组急性子MDA含量呈现连续下降趋势; 重度组MDA含量则基本平稳, 可能是盐胁迫下细胞膜破坏导致MDA积累所致。组间比较, 轻度组MDA含量与对照组差异无统计学意义, 重度组MDA含量高于轻度组, 但差异也无统计学意义, 表明本研究中不同浓度的盐胁迫对急性子细胞影响较小。分析原因, 笔者认为一方面可能由于本研究中所选混合盐浓度本身对MDA含量影响就比较小, 另一方面本研究中盐胁迫程度可能还处于急性子自身代偿范围内。

种子发育过程中积累的贮藏物质(如可溶性糖、可溶性蛋白)是种子萌发、幼苗生长早期所需的物质, 反映了种子内可利用态物质和能量的供应基础^[11]。可溶性蛋白、可溶性糖测定结果发现, 萌发过程中可溶性糖含量升高, 对盐胁迫下的急性子有一定的保护作用, 其中轻度混合盐胁迫对可溶性糖含量影响不显著, 而高浓度混合盐胁迫破坏了急性子的细胞结构, 使可溶性糖含量增加的趋势受到抑制, 且抑制效果显著。种子萌发过程中盐胁迫破坏了种子蛋白质的结构, 混合盐浓度越高, 可溶性蛋白含量越低。

综上所述, 本研究提示混合盐胁迫对急性子萌发

过程和生理特性有显著的影响,且浓度越高影响越明显;同时证实急性子对轻度混合盐胁迫具有一定耐受性,但对高浓度混合盐胁迫较为敏感。

参考文献:

References:

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[M].北京:中国科技医药出版社,2015:263.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of The People's Republic of China: Volume I [M]. Beijing: China Medical Sciences Press, 2015:263.
- [2] 南宝,徐力.徐力教授三段疗法在癌症治疗中的具体应用[J].浙江中医药大学学报,2017,41(6):490-493.
NAN Bao, XU Li. The three stages therapy of Professor XU Li's specific application in the treatment of cancer[J]. J Zhejiang Chin Med Univ, 2017, 41(6):490-493.
- [3] 陈艺林.中国植物志:47卷,第2分册[M].北京:科学出版社,2001:29.
CHEN Yilin. Flora of China: Vol. 47: No. 2 [M]. Beijing: Science Press, 2001:29.
- [4] 张永福,董翠莲,韩丽,等.酸碱胁迫对凤仙花种子萌发及幼苗生长生理的影响[J].江苏农业科学,2018,46(12):102-105.
ZHANG Yongfu, DONG Cuilian, HAN Li, et al. Effects of acid and alkali stress on seed germination and seedling growth of *Impatiens balsamina* [J]. Jiangsu Agric Sci, 2018, 46(12):102-105.
- [5] 谭勇,刘雨婷,汝梅,等.干旱和盐胁迫对知母种子发芽的影响[J].北方园艺,2019(11):112-116.
TAN Yong, LIU Yuting, RU Mei, et al. Effects of drought and salt stress on the germination of *Anemarrhenaasphodeloides* seed[J]. Nor Horticul, 2019(11):112-116.
- [6] 袁小凤,黄燕芬,施积炎,等.干旱胁迫下不同家系马尾松部分生理活动的变化[J].浙江中医药大学学报,2008,32(3):387-390.
YUAN Xiaofeng, HUANG Yanfen, SHI Jiyang, et al. Effect of soil drought stress on part physiological activities of Masson Pine of different family[J]. J Zhejiang Chin Med Univ, 2008, 32(3):387-390.
- [7] 林琼,黄华,李辉,等.凤仙花种子萌发过程中的生理生化变化[J].贵州农业科学,2009,37(6):48-50.
LIN Qiong, HUANG Hua, LI Hui, et al. Change of physiology and biochemistry during seed germination of *Impatiens balsamina* [J]. Guizhou Agric Sci, 2009, 37(6):48-50.
- [8] 廖科,文国琴,杜宇阳,等.盐胁迫对诱变凤仙花保护酶活性的影响[J].北方园艺,2019(3):101-108.
LIAO Ke, WEN Guoqin, DU Yuyang, et al. Effect of salt stress on protective enzyme activity of mutated *Impatiens balsamina* L. [J]. Nor Horticul, 2019(3):101-108.
- [9] 蔡庆生.植物生理学实验[M].北京:中国农业大学出版社,2013.
CAI Qingsheng. Plant Physiology Experiment [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2013.
- [10] 张志良,瞿伟菁,李小方.植物生理学实验指导[M].4版.北京:高等教育出版社,2006:180-184.
ZHANG Zhiliang, QU Weijing, LI Xiaofang. Experimental Guidance of Plant Physiology [M]. Fourth Edition. Beijing: Higher Education Press, 2006:180-184.
- [11] 付晶晶,孙健.NaCl胁迫对牛角瓜种子萌发及幼苗生理特性的影响[J].广西农学报,2016,31(3):19-23.
FU Jingjing, SUN Jian. Effects of NaCl stress on seed germination and seedlings physiological characteristics of *Calotropis gigantea* [J]. J Guangxi Agric, 2016, 31(3):19-23.
- [12] 乔绍俊,李会珍,张志军,等.盐胁迫对不同基因型紫苏种子萌发、幼苗生长和生理特征的影响[J].中国油料作物学报,2009,31(4):499-502.
QIAO Shaojun, LI Huizhen, ZHANG Zhijun, et al. Effect of salinity on seed germination, seedling growth and physiological changes in *Perilla frutescens* [J]. Chin J Oil Crop Sci, 2009, 31(4):499-502.
- [13] 崔丹丹,李林林,王继龙,等.盐碱胁迫对红花种子萌发的影响[J].中药材,2019,42(1):33-36.
CUI Dandan, LI Linlin, WANG Jilong, et al. Effects of saline-alkali stress on seed germination of safflower seed [J]. J Chin Med Mater, 2019, 42(1):33-36.
- [14] 郭坤元,何美军,林先明,等.NaCl胁迫对黄精种子活性和生理特性的影响[J].江苏农业科学,2018,46(14):110-112.
GUO Kunyuan, HE Meijun, LIN Xianming, et al. Effects of NaCl stress on seed activity and physiological characteristics of *Polygonatum sibiricum* [J]. Jiangsu Agric Sci, 2018, 46(14):110-112.
- [15] 尹燕桦,董学会.种子学实验技术[M].北京:中国农业出版社,2008:150-180.
YIN Yanping, DONG Xuehui. Experiment Techniques of Seed Science [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2008:150-180.
- [16] 林艳,郭伟珍,徐振华,等.大叶女贞抗寒性及冬季叶片丙二醛和可溶性糖含量的变化[J].中国农学通报,2012,28(25):68-72.
LIN Yan, GUO Weizhen, XU Zhenhua, et al. Cold resistance and changes on MDA and soluble sugar of leaves of *Ligustrun lucidum* Ait in winter [J]. Chin Agric Sci Bull, 2012, 28(25):68-72.
- [17] 马琳,张舒娜,张亚玉.东北延胡索种子萌发过程中生理生化变化[J].种子,2018,37(6):40-42.
MA Lin, ZHANG Shuna, ZHANG Yayu. Analysis on the physiological and biochemical change during seed germination of *Corydalis ambigua* Cham. et Schlecht [J]. Seed, 2018, 37(6):40-42.
- [18] 周莹,赵永娟,黄丽瑾,等.荆芥幼苗对盐胁迫的生理响应[J].核农学报,2018,33(1):166-175.
ZHOU Ying, ZHAO Yongjuan, HUANG Lijin, et al. Physiological responses of *Schizonepetatenuifolia* Briq. seedlings to salt stress [J]. Acta Agric Nucl Sin, 2018, 33(1):166-175.

(收稿日期:2020-04-19)