

DOI: 10.11686/cyxb20220206

http://cyxb.magtech.com.cn

苏世平, 刘小娥, 席杰. 三色堇对NaCl胁迫的生理响应. 草业学报, 2022, 31(8): 90—98.

SU Shi-ping, LIU Xiao-e, XI Jie. Physiological response of *Viola tricolor* to NaCl stress. Acta Prataculturae Sinica, 2022, 31(8): 90—98.

三色堇对NaCl胁迫的生理响应

苏世平, 刘小娥*, 席杰

(甘肃农业大学林学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要:为了探讨三色堇对NaCl胁迫的生理响应机制及生长特性,探索三色堇对NaCl的最高耐受浓度,以三色堇为研究材料,采用0、25、50、100、150、200 mmol·L⁻¹的NaCl对三色堇进行处理。结果表明,NaCl处理对三色堇渗透调节系统、抗氧化酶系统、光合色素、丙二醛(MDA)含量以及株高生长量有明显的影响。在处理14 d后,随处理浓度升高,可溶性糖(SS)、可溶性蛋白(SP)、游离脯氨酸(Pro)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)、总叶绿素(Chl)表现出先升高后降低的趋势,MDA呈升高趋势,株高生长量呈降低趋势。隶属函数分析表明,当土壤中NaCl浓度≤150 mmol·L⁻¹时对三色堇的生长无明显抑制作用,当浓度>150 mmol·L⁻¹时,对生长抑制作用明显。因此,三色堇耐NaCl的最高浓度为150 mmol·L⁻¹,超过此浓度,代谢调节系统和抗氧化酶系统会受到严重影响,Chl降解加剧,光合系统遭到严重破坏,三色堇的生长受到严重的影响。

关键词:三色堇; NaCl胁迫; 响应机制; 耐受限度

Physiological response of *Viola tricolor* to NaCl stress

SU Shi-ping, LIU Xiao-e*, XI Jie

College of Forestry, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

Abstract: This research investigated the physiological response mechanisms and growth characteristics of *Viola tricolor* in response to NaCl stress and explored the maximum NaCl concentration tolerated by *V. tricolor*. In a pot experiment, 45-day old seedlings of *V. tricolor* were subjected to different NaCl concentrations (0, 25, 50, 100, 150 and 200 mmol·L⁻¹). It was found that NaCl treatment at higher concentrations had obvious effects on the osmotic regulation system, antioxidant enzyme system, photosynthetic pigment, malondialdehyde content and plant height of *V. tricolor*. With increase in NaCl concentration, soluble sugar, soluble protein, free proline and chlorophyll contents, together with catalase, peroxidase and superoxide dismutase activities, initially increased and then decreased. MDA concentration exhibited a pattern of continuous increased, and height growth decreased on the 14th day of NaCl stress with increasing NaCl concentration. A membership function analysis showed no obvious inhibitory effect of NaCl on the growth of *V. tricolor* when the concentration of NaCl in soil was ≤150 mmol·L⁻¹ but in contrast, NaCl had an obvious inhibitory effect on *V. tricolor* growth when the concentration was >150 mmol·L⁻¹. Therefore, the maximum NaCl concentration tolerance of *V. tricolor* was 150 mmol·L⁻¹, above which, the metabolic regulation system and antioxidant enzyme system were seriously affected, chlorophyll degradation was intensified, the photosynthetic system was seriously damaged, and the growth of *V. tricolor* was seriously reduced.

Key words: *Viola tricolor*; NaCl stress; stress response mechanism; tolerance limits

收稿日期: 2022-01-12; 改回日期: 2022-02-28

基金项目: 国家自然科学基金(32060335), 对发展中国家常规性科技援助项目(KY202002011)和甘肃省自然科学基金(17JR5RA114)资助。

作者简介: 苏世平(1981-), 男, 甘肃庄浪人, 副教授, 博士。E-mail: susp008@163.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: liuxiaoe81@126.com

土壤盐渍化是全球面临的环境问题,由于在农业生产中长期的灌溉行为,导致盐分随灌溉水进入土壤,另外由于不合理的灌溉,导致过多的水分渗入土壤深层,在土壤水分蒸发的过程中,将深层土壤中残存的盐分通过土壤毛管蒸发作用运移到土壤表层,加剧了土壤盐渍化。有研究表明,全球现有盐碱地 10 亿 hm^2 ^[1-2],并以每年 100 万~150 万 hm^2 的速度增长,而我国是盐碱化土地重灾国,据报道,全国目前有盐渍化土地面积为 3600 万 hm^2 ,占全球盐碱地面积的 3.6%,占全国可耕地面积的 4.88%^[2-3]。因此,随着盐碱化土地面积和盐碱化程度的加剧,一方面将导致农业可耕地面积的减少,另一方面,将使盐碱地上生长的植物受到更强的盐碱胁迫,影响植物的正常生命活动。 NaCl 是土壤中最常见的中性盐,对植物的胁迫主要以 Na^+ 和 Cl^- 胁迫为主, Cl^- 是植物生长的营养元素之一,在植物体内主要以离子形态存在,参与光合作用光系统 II 中水的光解放氧反应,还能提高细胞的渗透压和植物组织的水合作用,具有一定的生理功能,但是植物对 Cl^- 的需要量较少,当 Cl^- 过多时会造成离子毒害,抑制植物生长^[4-5]。而 Na 元素不是植物生长所必需的元素,土壤中 Na 元素的存在,会对植物造成离子伤害,是因为 Na^+ 会取代细胞膜上的 Ca^{2+} ,导致细胞膜出现漏洞,细胞内原生质体外渗,进而引起离子种类和离子浓度发生改变, Na^+ 胁迫也会造成叶绿体破坏,使植物光合作用速率下降^[6-8]。植物在遭受盐胁迫后细胞内渗透调节系统会过量表达,以此来增加细胞膨压,维持细胞较高的水势,增强其保水能力^[9-12],抗氧化酶系统被激活,以此来清除过氧化氢、超氧阴离子等活性氧(reactive oxygen species, ROS),保护细胞膜系统的完整性^[13-14],也有研究表明,植物在遭受盐胁迫后,其代谢调节系统[脯氨酸(free proline, Pro)、可溶性糖(soluble sugar, SS)、可溶性蛋白(soluble protein, SP)含量]会不同程度地升高,而抗氧化酶系统[超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)]活性在低盐浓度下呈升高趋势,随着盐浓度的增加逐渐降低,光合色素含量随盐浓度的升高呈先升高后降低的趋势,生物产量降低,如株高生长和根系生长受限^[15],叶片变小,出现坏死斑点等^[16-17]。但是不同植物对 NaCl 的耐受程度不同,响应机理不同。

三色堇(*Viola tricolor*)为堇菜科堇菜属多年生草本,其喜在肥沃、排水良好、富含有机质、pH 为 5.4~7.4 的中性壤土或黏壤土上生长,在园林绿化中常用作花坛、花池、花镜以及模纹花坛摆放的材料,同时三色堇全株可药用,具有清热解毒、散瘀、止咳的功能^[18]。也有研究表明,三色堇花朵富含花青素、黄酮和类胡萝卜素,具有食用价值^[19],美国及有些国家已培育出食花用三色堇。因此,随着三色堇利用价值的不断拓宽,其栽培面积将不断升高,三色堇的抗逆性研究将会越来越多地受到关注。目前在干旱胁迫^[20]、盐胁迫^[21-22]、高温胁迫^[23-25]及重金属胁迫^[26]等方面做了相关研究,其中在 NaCl 胁迫下的研究,有的集中在渗透调节物质(Pro、SS、SP)方面,有的集中在抗氧化酶系统(SOD、POD、CAT)方面,有的集中在生长表现方面,有的集中在膜脂过氧化(丙二醛 malondialdehyde, MDA)方面,目前没有对三色堇在 NaCl 胁迫下的生理生化方面进行系统的研究,而植物的耐盐能力不是某一个指标或某一类指标的表现,而是多因子综合作用,调控植物的抗逆能力。因此本研究以食花用三色堇为对象,通过设置不同浓度的 NaCl 进行胁迫,探索三色堇对 NaCl 胁迫的响应机制以及其能耐受的最高土壤 NaCl 含量,为盐碱地三色堇的栽培提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

大花三色堇幼苗,种子购于蓝翔园艺。

1.2 试验方法

1.2.1 材料培育 2021 年 5 月,将泥炭土(丹麦生产)用蒸馏水浸泡 48 h 后,倒掉水分,用蒸馏水反复冲洗 3~5 次,以此清除泥炭土中可溶性离子,之后用 50% 的可湿性多菌灵粉剂灭菌并密封 5 d 后装入营养钵(直径×高度=10 cm×15 cm)待用。用蒸馏水将营养钵中基质浇透后每营养钵播种 2 粒种子,等发芽长出 2 片真叶后,每营养钵保留 1 株幼苗,待幼苗长出 5~6 片真叶(苗龄 45 d 左右)时进行盐胁迫处理。

1.2.2 试验处理 NaCl 设置 6 个浓度处理,为 0 (CK,蒸馏水浇灌)、25、50、100、150、200 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,每浓度处理 3 次重复,每重复 30 株(钵),每隔 2 d 处理一次。在处理时为避免盐冲激效应^[27],对浓度高于 25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的处理,每隔 1 d 用高一浓度的处理液进行浇灌,直至到达设定浓度后,每隔 1 d 用目标浓度的处理液浇灌 1 次,每次灌

溉量为基质持水量的2倍,确保有2/3的处理溶液流出,以此将前期由于水分蒸发而残留在土壤中的盐分冲洗掉,以保证NaCl浓度恒定(表1)。在全部处理达到目标浓度时定为盐胁迫处理的第1天。

表1 NaCl浓度处理递增表

Table 1 Concentration increasing order of NaCl treatments

浓度 Concentration (mmol·L ⁻¹)	预处理 Pretreatment					盐胁迫 NaCl treatment		
	0 d	1 d	2 d	3 d	4 d	1 d	7 d	14 d
0 (CK)	0	0	0	0	0	0	0	0
25	0	25	25	25	25	25	25	25
50	0	25	50	50	50	50	50	50
100	0	25	50	100	100	100	100	100
150	0	25	50	100	150	150	150	150
200	0	25	50	100	150	200	200	200

1.2.3 取样及测定 在处理达到预定浓度后的第7和14天,每重复随机选择10株进行生长指标和生理指标测定。每重复选择10株三色堇植株,每株选择大小一致的3片叶片,共30片,装入液氮中,供生理指标测定用,每一指标测定时,用直径为0.5 cm的打孔器进行每叶片取样,混合叶片作为样品,采用酶标仪(spectra MAX 190,美国)进行测定。

采用蒽酮比色法测定可溶性糖含量;采用碘基水杨酸提取法测定游离脯氨酸含量;采用考马斯亮蓝染色法测定可溶性蛋白含量;采用氮蓝四唑光化还原法测定超氧化物歧化酶活性;采用愈创木酚法测定过氧化物酶活性;采用紫外吸收法测定过氧化氢酶活性,采用分光光度法测定叶绿素(chlorophyll, Chl)含量,采用硫代巴比妥酸法测定丙二醛含量^[28-29]。

在处理第0天测定茎基部到顶芽处的高度 H_0 (cm),处理第7和14天测定茎基部至顶芽处的高度 H_7 、 H_{14} (cm)。株高净生长量 $\Delta_i = H_i - H_0$,式中: Δ_i 为处理后第*i*天的株高净生长量, H_0 为处理第0天的株高, H_i 为处理后第*i*天的株高, $i=7$ 或14。

1.3 数据处理与分析

采用SPSS 17.0软件进行方差分析,采用Duncan法检验各处理之间差异性,采用Microsoft Excel 2010软件进行作图及隶属函数分析。

如果该指标与抗盐能力呈正相关,计算公式为(1),如该指标与抗盐能力呈负相关,计算公式为(2),式中: $i=1,2,3,\dots,n$, X_i 为指标测定值, $X_{\max}$ 和 $X_{\min}$ 为该指标测定的最大值和最小值。隶属函数平均得分计算公式为(3), U_A 值高则表明耐盐能力强,反之则低。

$$U(X_i) = \frac{X_i - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}} \quad (1)$$

$$U(X_i) = 1 - \frac{X_i - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}} \quad (2)$$

$$U_A = \frac{\sum_{i=1}^n U(X_i)}{n} \quad (3)$$

2 结果与分析

2.1 NaCl胁迫对三色堇株高生长的影响

NaCl处理三色堇植株后,在处理浓度 ≤ 50 mmol·L⁻¹时,对株高净生长量有明显的促进作用,在14 d时,25 mmol·L⁻¹处理株高净生长量最高,为1.06 cm,在100 mmol·L⁻¹时,14 d的株高净生长量和CK相等,为0.66 cm,

当浓度 $>100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对株高净生长造成了抑制,并随浓度的升高抑制作用加剧,在 $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,株高净生长量比对照降低了45.43%。说明NaCl浓度 $>100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对株高生长的抑制作用明显(图1)。

2.2 NaCl处理对三色堇光合色素含量的影响

随着NaCl处理浓度的增加,光合色素含量在处理后第7和14天均呈先升高后降低的趋势(图2)。在处理的第14天,NaCl胁迫浓度为 $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时Chl含量比CK增加了6.50%;在浓度为 $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,比CK降低了30.05%。随着处理时间的延长,处理浓度 $\geq 50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,NaCl处理第14天的光合色素含量均低于第7天。说明浓度 $\leq 50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的NaCl处理能明显提高三色堇植株Chl含量,大于此浓度,光合色素的降解速度加剧。

2.3 NaCl胁迫对三色堇渗透调节物质的影响

随NaCl处理浓度的增加,SP含量在处理的第7和14天均呈先上升后降低的趋势,在处理的第14天,在胁迫浓度为 $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,SP含量最高,比CK增加了96.75%;在胁迫浓度为 $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时比CK降低了14.65%(图3)。随着处理时间的延长,各浓度NaCl处理第14天SP含量均低于第7天,各浓度盐胁迫处理后SP含量均大于对照(除 $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理第14天),并随着处理时间的延长,增加幅度呈降低趋势。说明三色堇植株经NaCl处理后,能显著提高SP含量。

随着NaCl处理浓度的增加,SS和Pro含量在处理的第7天均呈持续升高趋势,在第14天呈先上升后降低的趋势。SS含量在处理的第14天,胁迫浓度为 $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时最高,比CK增加了427.65%,在浓度为 $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时比CK增加了228.38%。除 $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理外,随着处理时间的延长,各浓度处理第14天时SS含量均高于第7天,且均高于CK,并随着处理浓度的升高,增加幅度呈降低趋势(图3)。说明三色堇植株经NaCl处理后,能显著提高SS含量。

Pro含量在处理的第14天,胁迫浓度为 $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时最高,比CK增加了121.08%;浓度为 $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时比CK增加了28.46%。除 $25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理外,随着处理时间的延长,处理第14天时Pro含量均低于第7天(图3)。在处理14 d时,浓度 $\geq 150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,Pro含量高于CK,说明在处理早期(7 d)NaCl胁迫能明显提高三色堇植株Pro含量,在处理晚期(14 d),当浓度 $\geq 150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,能显著提高Pro含量。

2.4 NaCl处理对三色堇抗氧化酶系统活性的影响

随着NaCl处理浓度的增加,POD活性在处理的第7和14天均呈先上升后降低的趋势。在处理的第14天,胁迫浓度为 $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,POD活性最高,比CK增加了89.60%;在浓度为 $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,比CK降低了8.33%(图4)。随着处理时间的延长,各浓度NaCl处理第14天的POD活性均高于第7天。浓度 $\leq 150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理三色堇植株能显著提高POD活性。

随着NaCl处理浓度的增加,SOD活性在处理的第7和14天均呈先上升后降低的趋势。在处理的第14天,在胁迫浓度为 $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,SOD活性最高,比CK增加了52.41%;在浓度为 $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,比CK降低了11.91%(图4)。随着处理时间的延长,各浓度NaCl处理第14天SOD活性均低于第7天。浓度 $\leq 150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理三色堇植株能显著提高SOD活性。

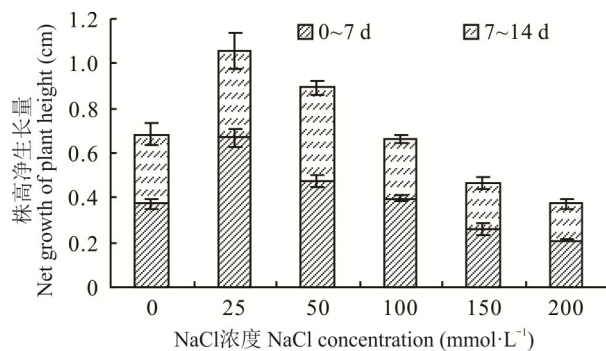


图1 NaCl处理下三色堇株高净生长量

Fig. 1 Net growth of plant height of *V. tricolor* under NaCl treatments

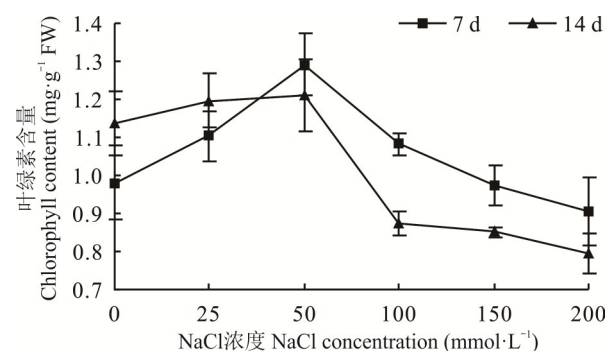


图2 NaCl处理下三色堇植株叶绿素含量

Fig. 2 Chlorophyll content of *V. tricolor* leaves under NaCl treatments

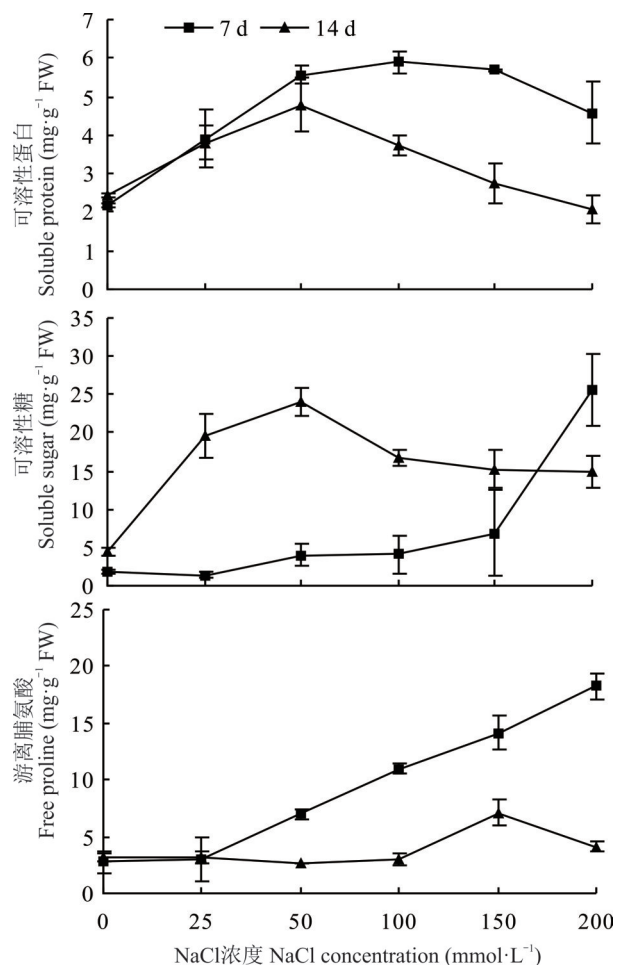


图3 NaCl处理下三色堇植株可溶性蛋白、可溶性糖和游离脯氨酸含量

Fig. 3 Soluble protein, soluble sugar and free proline content of *V. tricolor* leaves under NaCl treatments

随着NaCl处理浓度的增加,CAT活性在处理的第7和14天均呈先上升后降低的趋势。在处理的第14天,NaCl胁迫浓度为100 mmol·L⁻¹时,CAT活性最高,比CK增加了319.39%;在浓度为200 mmol·L⁻¹时,比CK降低了17.97%(图4)。随着处理时间的延长,≤100 mmol·L⁻¹处理的第14天时CAT活性均高于第7天。浓度≤150 mmol·L⁻¹处理三色堇植株能显著提高CAT活性。

2.5 NaCl处理对三色堇MDA含量的影响

随着NaCl处理浓度的增加,MDA含量在处理后第7和14天均呈升高的趋势。在处理的第14天,NaCl的胁迫浓度为200 mmol·L⁻¹时最高,比CK增加了101.97%(图5),说明随着NaCl浓度的升高,膜脂过氧化和细胞膜受损程度加剧。

2.6 NaCl处理对三色堇植株胁迫的综合评价

植物的耐盐能力不是某一个因子的单独作用,而是与耐盐能力密切相关的众多因子的综合作用,因此为了准确评价NaCl处理后三色堇耐盐能力和最高耐盐浓度,对所测定参数进行隶属函数分析(表2),结果表明,三色堇

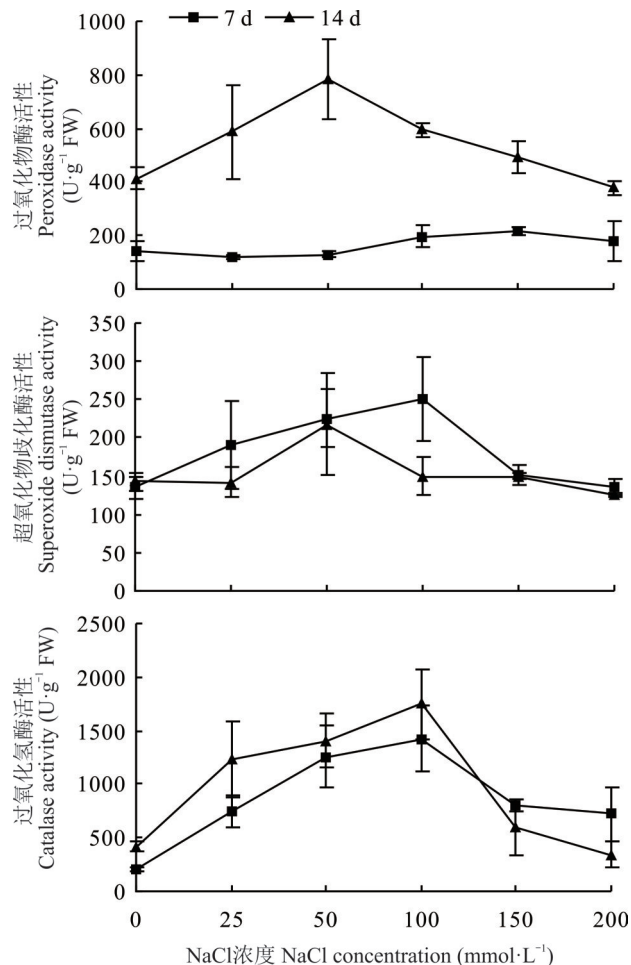


图4 NaCl处理下三色堇植株过氧化物酶、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性

Fig. 4 Peroxidase, superoxide dismutase and catalase activity of *V. tricolor* leaves under NaCl treatments

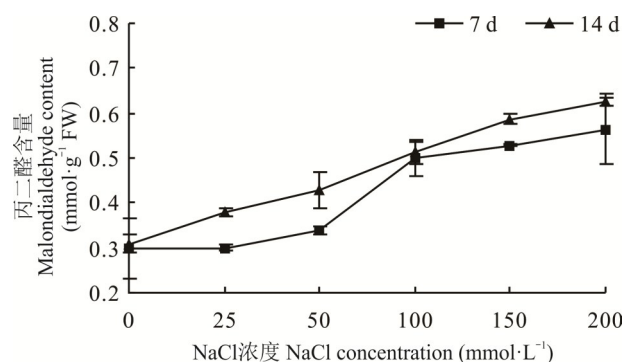


图5 NaCl处理下三色堇植株MDA含量

Fig. 5 MDA content of *V. tricolor* leaves under NaCl treatments

植株经 $\leq 150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaCl 处理后隶属函数平均得分均高于 CK 第 0 天(0.318),说明浓度 $\leq 150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的处理可通过提高 SS、SP、Pro 含量,激活 CAT、POD、SOD 活性,减缓 Chl 的降解进程,而 NaCl 浓度在 $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,得分低于 CK 第 0 天,说明代谢调节物质的积累和抗氧化酶活性受到严重影响,Chl 降解加剧,光合系统遭到严重破坏,严重抑制了三色堇的生长。

NaCl 处理隶属函数综合得分排序为: $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}>25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}>100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}>150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}>\text{CK}>200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。从综合排序结果看,三色堇植株对 NaCl 的最高耐受浓度为 $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

表 2 NaCl 处理下各指标的隶属函数得分

Table 2 Membership function score of *V. tricolor* under NaCl treatment

浓度 Concentration ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	SS	SP	Pro	CAT	POD	SOD	Chl	MDA	Δ_i	U_A	CR
0	0.000	0.132	0.128	0.053	0.085	0.185	0.822	1.000	0.455	0.318	5
25	0.769	0.634	0.115	0.630	0.514	0.791	0.963	0.776	1.000	0.688	2
50	1.000	1.000	0.000	0.755	1.000	1.000	1.000	0.615	0.757	0.792	1
100	0.622	0.610	0.080	1.000	0.532	0.265	0.191	0.353	0.424	0.453	3
150	0.549	0.242	1.000	0.182	0.273	0.262	0.134	0.117	0.134	0.322	4
200	0.534	0.000	0.333	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.096	6

SS: 可溶性糖 Soluble sugar; SP: 可溶性蛋白 Soluble protein; Pro: 游离脯氨酸 Free proline; CAT: 过氧化氢酶 Catalase; POD: 过氧化物酶 Peroxidase; SOD: 超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase; Chl: 叶绿素 Chlorophyll; MDA: 丙二醛 Malondialdehyde; Δ_i : 株高净生长量 Net growth of plant height; U_A : 隶属函数平均得分 Average score of membership function; CR: 综合排序 Comprehensive ranking.

3 讨论

NaCl 是土壤中最常见的中性盐,由于在农业生产中长期的灌溉行为,导致土壤中盐分积累。土壤中的盐分一部分是通过灌溉水引入,另一部分是通过土壤水分蒸发,将土壤深层盐分运移到表层^[30],土壤中盐分的增加影响植物的正常生长,严重时会使植物代谢失调,甚至死亡。本研究发现,土壤中存在一定浓度的 NaCl 有利于三色堇的生长,但是当土壤中 NaCl 浓度过高时,对三色堇生长会起到不良的影响。

植物在逆境胁迫下,通过主动积累 SS、SP、Pro 等渗透调节物质来维持细胞渗透势,避免盐分过多地进入细胞,从而降低逆境的危害程度,其累积量与抗逆性呈正相关^[31]。本研究发现,三色堇在 NaCl 胁迫下,SS、SP、Pro 积累量显著高于对照,说明三色堇在 NaCl 胁迫下,通过提高细胞内的渗透调节物质的含量来提高细胞的渗透压,进而维持细胞的吸水和保水能力,减缓 NaCl 胁迫对细胞的伤害,这与 Al-Farsi 等^[32]的研究结果一致。

植物在逆境胁迫下,通过提高抗氧化酶的活性来清除过氧化氢、超氧阴离子等 ROS^[13,33],以减缓 ROS 对细胞的伤害,其活性与植物的抗逆性呈正相关。本研究发现,三色堇植株经 NaCl 处理后,抗氧化酶系统 SOD、POD、CAT 整体表现出先升高后降低趋势,在处理 14 d,在盐浓度 $\leq 150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,SOD、POD、CAT 活性高于 CK,当处理浓度 $>150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,SOD、POD、CAT 活性均低于 CK,说明盐浓度 $>150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,加剧了三色堇细胞膜脂过氧化程度。渗透调节物质含量和抗氧化酶活性,在处理 14 d 时均表现出随浓度的升高而降低的趋势,这可能是当 NaCl 浓度高于三色堇自身能调节的范围时,导致代谢调节系统和抗氧化酶系统的紊乱,防御系统已不能维持较高水平,进而抑制了三色堇的生长和发育,这与梁晓艳等^[3]的研究结果一致。

叶绿素是植物进行光合作用的主要色素,在盐胁迫下,由于金属离子的毒害作用,导致叶绿素降解^[34],其降低程度与植物所受离子胁迫程度呈正相关。本研究发现,在 NaCl 胁迫下, $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理时 Chl 含量最高,当浓度 $>50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 Chl 含量低于 CK,说明超过此浓度,盐胁迫引起了 Chl 的降解,降低了光合作用速率,这与吕秀云等^[35]的研究结果一致。

MDA 是细胞膜脂质过氧化的产物,其含量与植物的抗逆性呈负相关^[36],因此可以用 MDA 含量评价植物的

抗逆境能力。本研究发现,NaCl胁迫后,MDA含量在整个处理期均呈升高趋势,说明随着NaCl浓度的升高,胁迫程度加剧,对质膜系统的伤害加大,这可能与脂质过氧化而引起的细胞膜受损导致电解质外渗有关。细胞膜是外界盐离子进入植物细胞的第1道屏障,在植物抗盐生理中有重要作用^[37],当细胞组织受到离子胁迫时,三色堇体内自由基的大量产生引发脂质过氧化^[38],细胞膜的完整性和功能受到伤害,膜的稳定性降低,导致细胞内的原生质体和大分子物质通过损伤部位大量外溢^[37-39],进而影响三色堇的正常代谢,严重时会导致细胞死亡,这与李子英等^[36]的研究结果一致。

生长量是植物的生理生化过程反馈于植物的外在表现,也是可以用肉眼直接观测到的表型特征,能对植物在逆境胁迫下的抗逆能力进行直观的观测,植物在逆境环境下的生长量与抗逆能力呈正相关,生长好,则表明其抗逆能力强^[36]。本研究发现,在盐浓度 $\leq 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl处理下,株高净生长量高于CK,说明低浓度盐胁迫下,能促进三色堇植株的生长,当盐浓度 $> 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,随着盐浓度的升高,三色堇株高生长量明显下降,说明盐浓度 $> 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对三色堇植株的生长造成抑制,这与张丽平等^[40]的研究结果一致。

植物的抗逆性是诸多生理生化因子综合作用的结果,本研究采用隶属函数法分析表明,三色堇植株最高耐受NaCl的浓度为 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,超过此浓度,其生长受限,可能是随NaCl浓度的升高, Na^+ 和 Cl^- 浓度同时升高而产生的双重离子胁迫作用。有研究表明, Cl^- 是植物16种必需营养元素之一,在植物体内主要以离子形态存在,它参与光合作用的光系统II中水的光解放氧反应,还能提高细胞的渗透压和植物组织的水合作用,具有一定的生理功能^[4-5],但是植物对 Cl^- 的需要量较少,当 Cl^- 过多时会造成离子毒害,抑制植物生长,因此低浓度的NaCl处理,提供了三色堇生长所必需的Cl元素,但 Cl^- 浓度过高时则成为有害元素,抑制其生长。Na元素不是植物生长所必需的元素,土壤中Na元素的存在,会对植物造成离子伤害,且与浓度呈正相关。有研究表明,当土壤中 Na^+ 过高时, Na^+ 将取代细胞膜上的 Ca^{2+} ,导致细胞膜出现漏洞,细胞内原生质体外渗,进而引起离子种类和离子浓度发生改变造成叶绿体破坏,使植物光合速率下降^[6]。也有研究表明,三色堇幼苗能耐受 $250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下的NaCl胁迫,但当浓度高于 $250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,植株出现大量死亡^[22],本研究中也观测到这种现象,在 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl处理时,植株出现萎蔫、部分死亡现象。

4 结论

NaCl处理三色堇植株后,对其抗氧化酶系统、渗透调节系统、光合色素、MDA以及株高净生长量产生了显著影响。在处理14 d,随处理浓度升高,SS、SP、Pro、CAT、POD、SOD、Chl均呈先升高后降低的趋势,MDA呈升高趋势,株高生长量呈降低趋势。隶属函数分析表明,当土壤中NaCl浓度 $\leq 150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对三色堇的生长无明显抑制作用,当浓度 $> 150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对其生长抑制作用明显。三色堇耐NaCl的最高浓度为 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,超过此浓度,代谢调节物质的积累和抗氧化酶系统的活性受到严重影响,Chl降解加剧,光合系统遭到严重破坏,三色堇的生长受到严重影响。

参考文献 References:

- [1] Zhang J L, Flower T J, Wang S M. Mechanisms of sodium uptake by roots of higher plants. *Plant and Soil*, 2010, 326: 45—60.
- [2] Wang J L, Huang X J, Zhong T Y, *et al.* Review on sustainable utilization of salt-affected land. *Acta Geographica Sinica*, 2011, 66(5): 673—684.
王佳丽, 黄贤金, 钟太洋, 等. 盐碱地可持续利用研究综述. *地理学报*, 2011, 66(5): 673—684.
- [3] Liang X Y, Gu Y Y, Li M, *et al.* Study on the morphological and physiological differences of different salt tolerant peanut varieties under salt stress. *Journal of Peanut Science*, 2018, 47(1): 19—26.
梁晓艳, 顾寅钰, 李萌, 等. 盐胁迫下不同耐盐性花生品种形态及生理差异研究. *花生学报*, 2018, 47(1): 19—26.
- [4] Franco-Navarro, Rosales M A, Cubero-Font P, *et al.* Chloride as a macronutrient increases water-use efficiency by anatomically driven reduced stomatal conductance and increased mesophyll diffusion to CO_2 . *The Plant Journal*, 2019, 99(5): 815—831.
- [5] Wang D Q, Guo P C, Dong X Y. Study on toxic effect of chlorine on crops. *Chinese Journal of Soil Science*, 1990(6): 258—261.

- 王德清, 郭鹏程, 董翔云. 氯对作物毒害作用的研究. 土壤通报, 1990(6): 258—261.
- [6] Zhang M Q, Chen R K. Studies on the mechanism for effect of NaCl stress on sugarcane growth. Sugarcane, 1994, 1(3): 8—12.
- 张木清, 陈如凯. NaCl胁迫对甘蔗生长影响的机理研究. 甘蔗, 1994, 1(3): 8—12.
- [7] Mikela P, Kirkainen J, Somersalo S. Effects of glycinebetaine on chloroplast ultrastructure, chlorophyll and protein content, and RuBPCO activities in tomato grown under drought or salinity. Biologia Plantarum, 2000, 43(3): 471—475.
- [8] Lu S W, Qi F, Li T L. Effect of NaCl and PEG iso-osmotic stresses on photosynthetic characteristics and sucrose metabolizing in tomato leaf. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2012, 27(3): 136—141.
- 鲁少尉, 齐飞, 李天来. NaCl及等渗PEG胁迫对番茄叶片光合特性及蔗糖代谢的影响. 华北农学报, 2012, 27(3): 136—141.
- [9] Guo N N, Chen X L, Zhang J, *et al.* Changes in antioxidase activity and osmotic adjusting substance of *Tamarix chinensis* seedling under NaCl stress. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2015, 35(8): 1620—1625.
- 郭楠楠, 陈学林, 张继, 等. 柽柳组培苗抗氧化酶及渗透调节物质对NaCl胁迫的响应. 西北植物学报, 2015, 35(8): 1620—1625.
- [10] Yao J, Liu X B, Cui X, *et al.* Effects of NaCl stress on substances linked to osmotic adjustment and on photosynthetic physiology of *Melilotoides ruthenica* in the seedling stage. Acta Prataculturae Sinica, 2015, 24(5): 91—99.
- 姚佳, 刘信宝, 崔鑫, 等. 不同NaCl胁迫对苗期扁蓐豆渗透调节物质及光合生理的影响. 草业学报, 2015, 24(5): 91—99.
- [11] Wang J P, Wang S T, Yue J M, *et al.* Physiological response of *Cinamomum camphora* seedlings to NaCl stress. Science of Soil and Water Conservation, 2016, 14(5): 82—89.
- 王金平, 王舒甜, 岳健敏, 等. 香樟幼苗对NaCl胁迫的生理响应. 中国水土保持科学, 2016, 14(5): 82—89.
- [12] Xing J C, Dong J, Wang M W, *et al.* Effects of NaCl stress on growth of *Portulaca oleracea* and underlying mechanisms. Brazilian Journal of Botany, 2019, 42: 217—226.
- [13] Sharma P, Dubey R S. Involvement of oxidative stress and role of antioxidative defense system in growing rice seedlings exposed to toxic concentrations of aluminum. Plant Cell Reports, 2007, 26(11): 2027—2038.
- [14] Jia X P, Deng Y M, Sun X B, *et al.* Impacts of salt stress on the growth and physiological characteristics of *Paspalum vaginatum*. Acta Prataculturae Sinica, 2015, 24(12): 204—212.
- 贾新平, 邓衍明, 孙晓波, 等. 盐胁迫对海滨雀稗生长和生理特性的影响. 草业学报, 2015, 24(12): 204—212.
- [15] Zhang Z H, Wang H, Tang Z H, *et al.* High NaHCO₃ stress causes direct injury to *Nicotiana tabacum* roots. Journal of Plant Interactions, 2014, 9(1): 56—61.
- [16] Long C Y, Deng H M, Su M J, *et al.* Effects of three salt stresses on growth, physiology and biochemistry of *Cirsium japonicum*. Pratacultural Science, 2017, 34(12): 2484—2492.
- 龙聪颖, 邓辉茗, 苏明洁, 等. 3种盐胁迫对菊幼苗生长及生理生化的影响. 草业科学, 2017, 34(12): 2484—2492.
- [17] Urbinati G, Nota P, Frattarelli A, *et al.* Morpho-physiological responses of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) to NaCl stress. Plant Biosystems—An International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology, 2020, 154(6): 827—834.
- [18] Wang L, Hu B Z. Biological characteristics and cultivation management of *Viola tricolor* L. Journal of Northeast Agricultural University, 2008, 39(6): 132—135.
- 王磊, 胡宝忠. 三色堇(*Viola tricolor* L.)生物学特性及栽培管理. 东北农业大学学报, 2008, 39(6): 132—135.
- [19] Endo T. Biochemical and genetical investigations of flower color in swiss giant pansy, *Viola×wittrockiana* gams. III. The Japanese Journal of Genetics, 1959, 34(4): 116—124.
- [20] Zhu Y X, Han C Y, Bai Z H. Effect of drought stress on physiological indices of potted pansy. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2013, 42(8): 109—111.
- 朱永兴, 韩春叶, 白志怀. 干旱胁迫对盆栽三色堇生理指标的影响. 河南农业科学, 2013, 42(8): 109—111.
- [21] Liu H C, Jia W Q, Zhu T T. Effects of salt stress on CAT, POD and the cell membrane permeability of *Viola tricolor*. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2010, 23(4): 98—100.
- 刘会超, 贾文庆, 朱婷婷. 盐胁迫对三色堇CAT、POD活性及细胞质膜透性的影响. 河南农业科学, 2010, 23(4): 98—100.
- [22] You Y, Jia W Q. Effect of NaCl stress on SOD, POD and chlorophyll content in *Viola tricolor*. Northern Horticulture, 2012(6): 64—66.
- 尤扬, 贾文庆. NaCl胁迫对三色堇SOD、POD及叶绿素含量的影响. 北方园艺, 2012(6): 64—66.

- [23] Peng H T, Gao Y, Du H M, *et al.* Effects of heat stress on related physiological indexes of pansy cultivar seedlings. *Journal of Shanghai Jiaotong University (Agricultural Science)*, 2012, 30(6): 66–71.
彭华婷, 高悦, 杜红梅, 等. 高温胁迫对大花三色堇幼苗相关生理指标的影响. *上海交通大学学报(农业科学版)*, 2012, 30(6): 66–71.
- [24] Chen H Z, Du X H, Mu J Y, *et al.* Physiological response of *Viola tricolor* L. and *Viola cornuta* to high temperature stress. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2017, 45(6): 124–126.
陈宏志, 杜晓华, 穆金艳, 等. 大花三色堇和角堇对高温胁迫的生理响应. *江苏农业科学*, 2017, 45(6): 124–126.
- [25] Qi Y Y, Du X H, Wang M Y, *et al.* Physiological response of *Viola tricolor* L. and *Viola cornuta* to low temperature stress and hardiness. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2017, 45(15): 115–118.
齐阳阳, 杜晓华, 王梦叶, 等. 大花三色堇和角堇对低温胁迫的生理响应及其抗寒性. *江苏农业科学*, 2017, 45(15): 115–118.
- [26] Jiang C, Wang J J, Li J M, *et al.* Effect of Cr^{6+} on the seed germination and chlorophyll content of *Viola tricolor*. *Northern Horticulture*, 2018(19): 78–82.
姜成, 王景佳, 李佳美, 等. 重金属铬(Cr^{6+})对三色堇种子萌发及叶绿素含量的影响. *北方园艺*, 2018(19): 78–82.
- [27] Liu J X, Wang J C, Jia H Y. Differences between physiological responses of *Avena nuda* seedlings to salt and alkali stresses. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2015, 29(5): 331–336.
刘建新, 王金成, 贾海燕. 燕麦幼苗对盐胁迫和碱胁迫的生理响应差异. *水土保持学报*, 2015, 29(5): 331–336.
- [28] Li H S. Principle and technology of plant physiological and biochemical experiments. Beijing: Higher Education Press, 2001: 134–170.
李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2001: 134–170.
- [29] Gao J F. Guidance of plant physiology experiments. Beijing: Higher Education Press, 2006.
高俊凤. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [30] Wei B X. Distribution and cause analysis of saline-alkaline soils in China. *Technology of Soil and Water Conservation*, 2012, 150(6): 27–28.
魏博娴. 中国盐碱土的分布与成因分析. *水土保持应用技术*, 2012, 150(6): 27–28.
- [31] Anokye E, Lowor S T, Dogbatse J A, *et al.* Potassium application positively modulates physiological responses of cocoa seedlings to drought stress. *Agronomy*, 2021, 11(3): 1–19.
- [32] Al-Farsi S M, Nawaz A, Anees-ur-Rehman, *et al.* Effects, tolerance mechanisms and management of salt stress in lucerne (*Medicago sativa*). *Crop and Pasture Science*, 2020, 71: 411–428.
- [33] Heyno E, Mary V, Schopfer P, *et al.* Oxygen activation at the plasma membrane: Relation between superoxide and hydroxyl radical production by isolated membranes. *Planta*, 2011, 234(1): 35–45.
- [34] Agastian P, Kingsley S J, Vivekanandan M. Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. *Photosynthetica*, 2000, 38(2): 287–290.
- [35] Lv X Y, You T Y, Zhao J, *et al.* Morphology and physiological responses of *Chenopodium album* L. under salt stress. *Plant Physiology Journal*, 2012, 48(5): 477–484.
吕秀云, 油天钰, 赵娟, 等. 盐胁迫下藜的形态结构与生理响应. *植物生理学报*, 2012, 48(5): 477–484.
- [36] Li Z Y, Cong R C, Yang Q S, *et al.* Effects of saline-alkali stress on growth and osmotic adjustment substances in willow seedlings. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(24): 8511–8517.
李子英, 丛日春, 杨庆山, 等. 盐碱胁迫对柳树幼苗生长和渗透调节物质含量的影响. *生态学报*, 2017, 37(24): 8511–8517.
- [37] Ma L Q, Han Z H, Zhou E F, *et al.* Effect of salt stress on protective enzyme system of membrane in *Malus zumi* and *M. baccata*. *Journal of Fruit Science*, 2006, 23(4): 495–499.
马丽清, 韩振海, 周二峰, 等. 盐胁迫对珠美海棠和山定子膜保护酶系统的影响. *果树学报*, 2006, 23(4): 495–499.
- [38] Juknys R, Vitkauskaitė G, Raciute M, *et al.* The impacts of heavy metals on oxidative stress and growth of spring barley. *Central European Journal of Biology*, 2012, 7(2): 299–306.
- [39] Xu Y, Xiao H Y, Zheng N J, *et al.* Progress on responding of free amino acid in plants to salt stress. *Environmental Science & Technology*, 2016, 39(7): 40–47.
徐宇, 肖化云, 郑能建, 等. 植物组织中游离氨基酸在盐胁迫下响应的研究进展. *环境科学与技术*, 2016, 39(7): 40–47.
- [40] Zhang L P, Wang X F, Shi Q H, *et al.* Differences of physiological responses of cucumber seedlings to NaCl and NaHCO_3 stress. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(8): 1854–1859.
张丽平, 王秀峰, 史庆华, 等. 黄瓜幼苗对氯化钠和碳酸氢钠胁迫的生理响应差异. *应用生态学报*, 2008, 19(8): 1854–1859.