

碳酸钠胁迫对甜菜幼苗生长及保护酶的影响

郭剑, 李彩凤*, 陈明, 徐影, 刘磊, 桑丽敏, 盖志佳, 王玉波, 曹英雪, 马凤鸣

东北农业大学农学院, 哈尔滨150030

摘要: 以甜菜‘KWS0143’和‘Beta464’两个品种为试验材料, 研究不同浓度(0、0.4%、0.8%和1.2%) Na_2CO_3 胁迫下, 甜菜苗期植株生长, 叶片及根系的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)及丙二醛(MDA)的变化。结果表明, 同一取样时期, 随着 Na_2CO_3 浓度的增加, 植株的干鲜重呈先增加后降低的趋势, 0.4% Na_2CO_3 处理下甜菜幼苗干鲜重显著高于对照($P<0.05$)。叶片和根中的SOD和POD活性变化趋势相一致, 总体呈先升高后下降的趋势, 在0.4% Na_2CO_3 处理下活性最高。MDA含量则呈递增的趋势, 1.2% Na_2CO_3 处理下含量最多。同一浓度下, SOD和POD活性随着处理时间的延长呈先上升后下降的趋势, 且在2对真叶展开后的第3周活性最高, 而MDA含量则呈现急剧增加后缓慢上升的趋势。而且高浓度1.2% Na_2CO_3 处理下‘KWS0143’耐盐碱能力强于‘Beta464’。

关键词: 甜菜; 碳酸钠胁迫; 过氧化物酶; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

Effects of Na_2CO_3 Stress on the Growth and Antioxidant Enzymes of *Beta vulgaris* Seedlings

GUO Jian, LI Cai-Feng*, CHEN Ming, XU Ying, LIU Lei, SANG Li-Min, GAI Zhi-Jia, WANG Yu-Bo, CAO Ying-Xue, MA Feng-Ming

College of Agricultural, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China

Abstract: The sugar beet (*Beta vulgaris*) ‘KWS0143’ and ‘Beta464’ were used as materials, to study the activities of SOD, POD and the content of MDA in leaves and roots under different concentrations (0, 0.4%, 0.8%, 1.2%) of Na_2CO_3 stress. The results showed that in same sampling period, fresh and dry weight of plants increased firstly and then decreased with increasing concentration of Na_2CO_3 , and the fresh and dry weight of seedlings with 0.4% Na_2CO_3 treatment were significantly higher than those of CK. The activities of SOD and POD in leaves and roots had the same tends which increased at primary stage and then decreased, and the activities were the highest with 0.4% Na_2CO_3 treatment. The content of MDA increased and reached the highest with 1.2% Na_2CO_3 in leaves and roots. In the same concentration, the activities of SOD and POD increased firstly and then decreased with the extension of time. In the third week after the two pairs of true leaves unfolded, the activities reached highest. But the content of MDA increased slowly after a sharp upward trend over time. It indicated that under 1.2% Na_2CO_3 stress the salinity ability of ‘KWS0143’ was more stronger than ‘Beta464’.

Key words: *Beta vulgaris* (sugar beet); Na_2CO_3 stress; POD; SOD; MDA

近年来土壤盐碱化已成为现代农业生产面临的主要问题之一, 全世界至少50%的灌溉土壤受到不同程度盐碱化的危害(Rao等2008)。目前, 我国盐碱地面积占耕地面积多达1亿 hm^2 , 主要分布于西北、东北、华北以及滨海地区(邓绍云和邱清华2011)。盐碱化程度的不断加剧不仅破坏了土壤的结构, 也严重制约着农业生产和可持续发展。因此, 寻找适合在盐碱土地上生长的作物, 研究耐盐的机制, 探求调控途径对农业的可持续发展具有重要的意义。甜菜在栽培作物中耐盐碱强度名列前茅, 有关甜菜耐盐的研究已有报道, 盐离子浓度

的增加, 导致甜菜吸水困难, 影响着植株生长和产量的形成(李蔚农等2007; 惠菲等2012; 耿贵等2004)。过多的盐离子打破了甜菜体内的平衡, 产生过多的活性氧, 为了避免和减轻活性氧对细胞膜的损伤, 维持细胞内环境的平衡与稳定, 甜菜通过调节超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)等保护酶活性, 以适

收稿 2014-12-26 修定 2015-04-29

资助 国家自然科学基金(31171493)。

* 通讯作者(E-mail: licai Feng@neau.edu.cn; Tel: 0451-55190854)。

应和抵抗胁迫环境(郭艳超等2011; 陈贵华和张少英2012)。

前人研究多以中性盐为主, 而东北平原面积的一半则是以碳酸钠为主的苏打盐碱土壤, 是最具开发潜力的土壤资源(曲元刚和赵可夫2003; 赵兰坡等2012), 因此以碳酸钠作为胁迫条件, 研究甜菜苗期对盐碱胁迫的响应, 更具针对性和实用性。此外根系作为植物与土壤直接接触的重要器官, 最早感受胁迫信号, 胁迫下保护酶活性的高低, 影响作物生长的状态。叶片则是植物光合作用的主要场所, 胁迫同样影响着叶片的形态变化, 进而制约植株的生长, 因此叶片与根系共同影响着作物抗逆性的形成。但由于根的生长环境特殊以及研究手段的狭窄性, 导致关于盐碱胁迫下根部形态和生理变化的研究较少。所以本试验通过研究碳酸钠胁迫下甜菜幼苗期植株干鲜重, 叶片和根系SOD、POD及丙二醛(malonedialdehyde, MDA)的动态变化, 讨论盐碱胁迫下甜菜幼苗保护酶的响应, 进一步分析甜菜耐盐碱强度, 以期提高甜菜在盐碱地上的栽培生产能力, 为农业盐碱地的高效开发利用和农业生产力的提升提供参考。

材料与方法

1 试验材料

供试材料为甜菜(*Beta vulgaris* L.)耐盐品种‘KWS0143’和中度耐盐品种‘Beta464’ (陈业婷等2010)。

2 试验设计

盆栽实验, 盆直径22 cm, 高20 cm。设碳酸钠(Na_2CO_3 , 无结晶水, 分析纯度99.8%) 在土壤中的质量百分比为0、0.4%、0.8%和1.2%四个处理, 每个处理12盆, 每盆20株, 共计96盆。将 Na_2CO_3 称量后, 均匀拌于每个处理的盆栽土壤中。每盆下面都垫有托盘, 浇水后将渗漏到托盘中的溶液再倒入盆中, 以保证每个处理的浓度不变。同时, 所有处理按 $120 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 纯氮、 $90 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \text{P}_2\text{O}_5$ 、 $60 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \text{K}_2\text{O}$ 进行施肥, 每盆肥料分别用0.337 g尿素、0.476 g硫酸钾和0.778 g磷酸二铵, 5月3日开始播种。

试验期间, 当第2对真叶完全展后, 每隔7 d左右于晴朗天气的早晨8:00~10:00之间进行取样, 共计取样5次。每次取样时, 将各处理的植株装入冰

盒后带回实验室, 迅速经液氮处理保存于 -80°C 冰箱, 测定各项生理指标。

3 测定方法

将植株完整取回后, 用蒸馏水冲洗干净, 再用滤纸吸干表面水, 称取鲜重。然后在 105°C 下杀青15 min, 80°C 烘干至恒重, 称其干重, 每个处理3次重复, 每次重复2株幼苗。鲜重和干重的相对增长率(I 值) $=(\text{处理}-\text{对照})/\text{对照}$ 。

超氧化物歧化酶(SOD)活性采用NBT光还原法(张志良2004); 过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法(张志良2004); 丙二醛(MDA)活性采用硫代巴比妥酸显色法(李合生2003)。

4 数据处理

原始数据采用Excel数据分析制图, 统计分析采用DPS软件进行差异显著性分析。

实验结果

1 不同浓度 Na_2CO_3 对甜菜幼苗鲜重的影响

在 Na_2CO_3 胁迫下, 两个品种的鲜重表现出相似的变化趋势。如表1所示, 同一取样时期, 在0.4% Na_2CO_3 处理下, 甜菜幼苗鲜重高于对照, 且处理间达显著水平($P<0.05$); 随着处理浓度的不断增加, 鲜重呈下降趋势, 在0.8%和1.2% Na_2CO_3 处理下鲜重显著小于对照。在0.4% Na_2CO_3 处理下, ‘KWS0143’的相对增长率(I 值)除第一次取样外均小于‘Beta464’; 而在浓度为0.8%和1.2%时, ‘KWS0143’的 I 值则全部大于‘Beta464’。说明‘KWS0143’对 Na_2CO_3 的耐受程度大于‘Beta464’。

2 不同浓度 Na_2CO_3 对甜菜幼苗干重的影响

由表2可以看出, 同一取样时期, 两个品种的干重均表现为先上升后下降的趋势, 不同 Na_2CO_3 浓度处理的干重顺序为 $0.4\%>\text{对照}>0.8\%>1.2\%$, 0.4% Na_2CO_3 处理下干重显著高于对照, 0.8%和1.2% Na_2CO_3 处理下干重显著低于对照($P<0.05$)。这说明一定浓度的 Na_2CO_3 胁迫促进了甜菜幼苗干重的增加, 但随着土壤的盐碱化程度加重, 土壤的溶液浓度大于植物体内溶液浓度, 植株吸水困难, 干重表现为浓度越大, 生物量越小。不同品种不同处理间 I 值有所不同, 除第一次取样, 0.4% Na_2CO_3 浓度处理的‘KWS0143’ I 值都大于‘Beta464’。而0.8%和1.2% Na_2CO_3 浓度处理的‘KWS0143’所有 I 值均大于

表1 Na₂CO₃胁迫对甜菜幼苗鲜重的影响
Table 1 Effects of Na₂CO₃ on the fresh weight in sugar beet seedlings

甜菜品种	处理浓度/%	取样日期(月-日)									
		6-7		6-15		6-22		6-29		7-7	
		鲜重/g·株 ⁻¹	I值	鲜重/g·株 ⁻¹	I值	鲜重/g·株 ⁻¹	I值	鲜重/g·株 ⁻¹	I值	鲜重/g·株 ⁻¹	I值
‘KWS0143’	0	2.63 ^b	0	5.66 ^a	0	8.56 ^a	0	16.50 ^b	0	16.63 ^a	0
	0.4	5.23 ^a	0.99	8.27 ^b	0.46	9.54 ^a	0.11	18.00 ^a	0.09	23.26 ^b	0.40
	0.8	2.13 ^{bc}	-0.19	4.68 ^c	-0.17	5.69 ^b	-0.34	6.86 ^c	-0.58	9.79 ^c	-0.41
	1.2	1.69 ^c	-0.36	4.47 ^c	-0.21	5.89 ^b	-0.31	5.85 ^c	-0.65	7.33 ^d	-0.56
‘Beta464’	0	4.31 ^a	0	10.93 ^a	0	13.78 ^a	0	22.11 ^a	0	20.72 ^a	0
	0.4	5.64 ^b	0.31	19.80 ^b	0.81	23.38 ^b	0.70	26.30 ^b	0.19	31.02 ^b	0.50
	0.8	2.32 ^c	-0.46	4.52 ^c	-0.59	10.67 ^c	-0.23	12.66 ^c	-0.43	11.00 ^c	-0.47
	1.2	1.48 ^d	-0.66	2.76 ^c	-0.75	4.39 ^d	-0.68	3.70 ^d	-0.83	4.33 ^d	-0.79

同列数据后小写字母表示同一品种不同处理间差异显著(P<0.05); 下表同此。

表2 Na₂CO₃胁迫对甜菜幼苗干重的影响
Table 2 Effects of Na₂CO₃ on the dry weight in sugar beet seedlings

甜菜品种	处理浓度/%	取样日期(月-日)									
		6-7		6-15		6-22		6-29		7-7	
		干重/g·株 ⁻¹	I值	干重/g·株 ⁻¹	I值	干重/g·株 ⁻¹	I值	干重/g·株 ⁻¹	I值	干重/g·株 ⁻¹	I值
‘KWS0143’	0	0.24 ^b	0	0.62 ^b	0	1.31 ^a	0	1.87 ^a	0	2.54 ^b	0
	0.4	0.37 ^a	0.54	0.74 ^a	0.19	1.46 ^a	0.11	1.82 ^a	-0.03	3.14 ^a	0.24
	0.8	0.19 ^b	-0.18	0.44 ^c	-0.29	0.86 ^b	-0.41	1.08 ^b	-0.42	1.85 ^c	-0.27
	1.2	0.16 ^b	-0.32	0.21 ^d	-0.66	0.90 ^b	0.04	0.97 ^b	-0.48	1.29 ^d	-0.49
‘Beta464’	0	0.39 ^a	0	1.06 ^b	0	2.17 ^b	0	3.68 ^a	0	4.07 ^b	0
	0.4	0.42 ^a	0.08	1.56 ^a	0.47	3.21 ^a	0.48	3.81 ^a	0.03	5.22 ^a	0.28
	0.8	0.15 ^b	-0.61	0.41 ^c	-0.62	1.61 ^c	-0.50	2.07 ^b	-0.44	1.94 ^c	-0.52
	1.2	0.07 ^b	-0.83	0.36 ^c	-0.66	0.62 ^d	-0.62	0.53 ^c	-0.86	0.63 ^d	-0.85

‘Beta464’。进一步说明‘KWS0143’在对Na₂CO₃的耐受程度大于‘Beta464’。

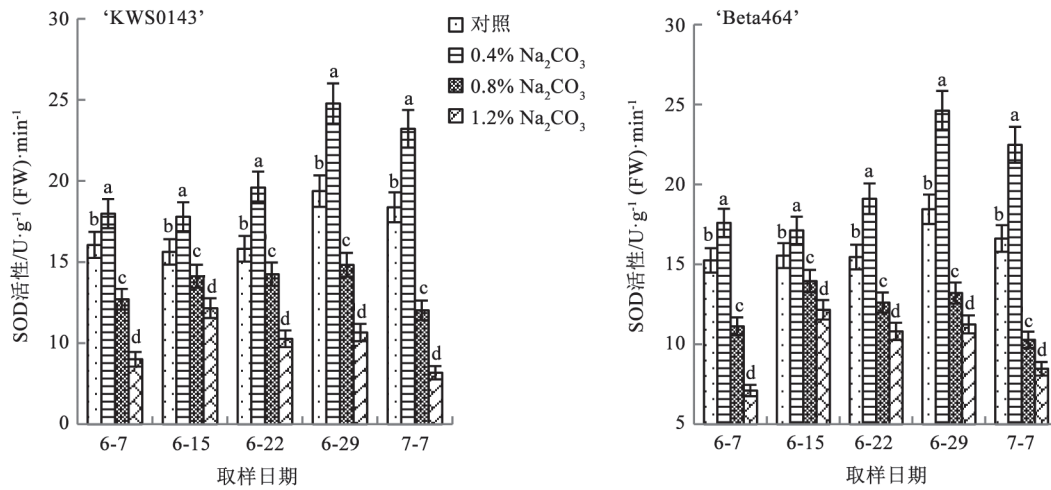
3 不同浓度Na₂CO₃对甜菜幼苗SOD活性的影响

如图1和2所示, 同一取样时期, 叶片和根系表现出相同的变化趋势, SOD活性总体上随浓度的增加呈先增加后降低的趋势。在0.4% Na₂CO₃浓度处理下, 叶片和根系的SOD活性显著高于对照(P<0.05), 活性达到最高; 当Na₂CO₃浓度在0.8%和1.2%时, SOD活性有了明显的下降, 表现为对照>0.8%>1.2%。随胁迫时间的延长, SOD活性呈先上升后下降, 在第二对真叶完全展开后的22 d SOD活性最高。两品种间的变化趋势相似, 在Na₂CO₃浓度在0.8%和1.2%时, ‘KWS0143’的SOD活性高于‘Beta464’; 说明在Na₂CO₃胁迫下‘KWS0143’的耐受能力比‘Beta464’更强。而根系与叶片相比, 根系

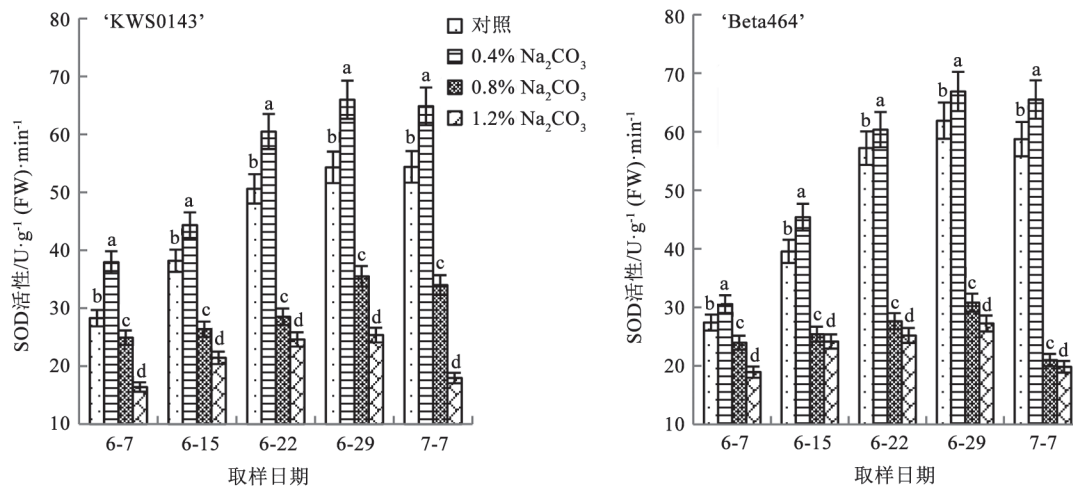
中的SOD活性小于叶片中的。

4 不同浓度Na₂CO₃对甜菜幼苗POD活性的影响

如图3和4所示, 在Na₂CO₃胁迫下, 甜菜幼苗根系和叶片的POD活性变化趋势相似, 均表现出随胁迫浓度的增加和处理时间的延长呈先上升后下降的趋势。不同浓度处理下的甜菜幼苗叶片和根系的POD活性存在差异, 0.4% Na₂CO₃处理下酶活性有所增加, 显著高于对照(P<0.05), 即0.4%>对照>0.8%>1.2%; 随着处理时间的延长, 各处理间POD活性都有明显的上升, 在第2对真叶完全展开后22 d的酶活性最高, 后又开始下降。两甜菜品种‘Beta464’和‘KWS0143’在苗期表现出了相似的变化趋势, 而两品种根系的POD活性均大于叶片的酶活性, 在Na₂CO₃浓度在0.8%和1.2%时, ‘KWS0143’的POD活性高于‘Beta464’, 说明在Na₂CO₃胁迫条件下

图1 Na_2CO_3 胁迫对甜菜根系SOD活性的影响Fig.1 Effects of Na_2CO_3 on the SOD activities in roots of sugar beet

不同小写字母表示不同处理间差异显著; 下图同此。

图2 Na_2CO_3 胁迫对甜菜叶片SOD活性的影响Fig.2 Effects of Na_2CO_3 on the SOD activities in leaves of sugar beet

‘KWS0143’的耐受能力比‘Beta464’更强。

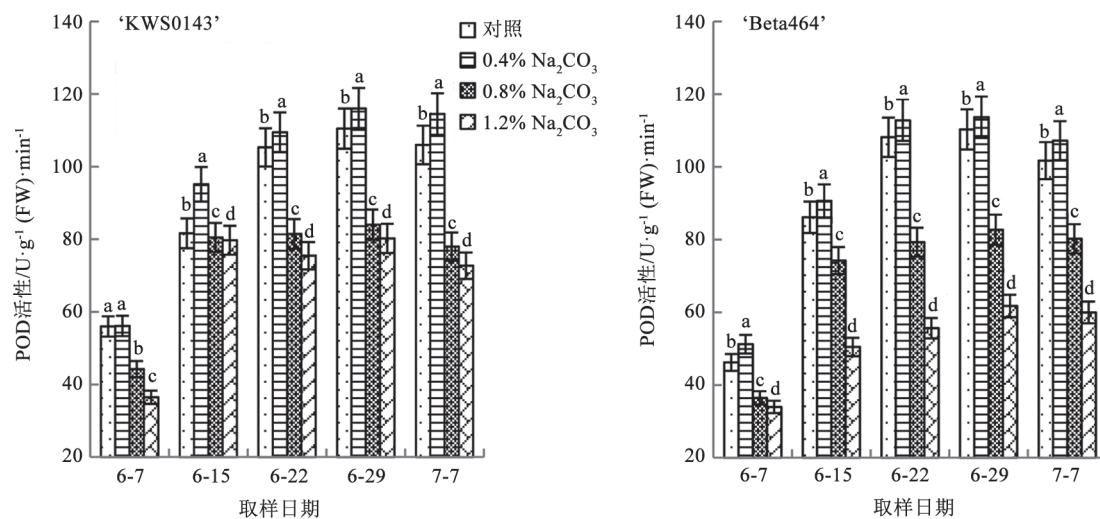
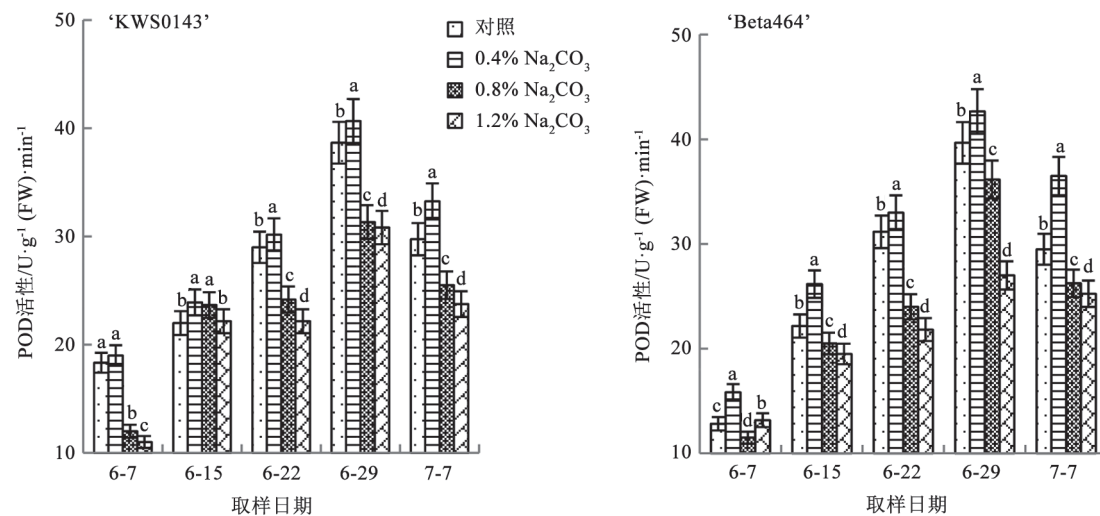
5 不同浓度 Na_2CO_3 对甜菜幼苗MDA含量的影响

植物体内活性氧积累, 可导致细胞膜的结构和功能遭受损伤, 而MDA是膜脂过氧化的终产物之一, 因此, 其含量高低反映着脂质的氧化程度和质膜破坏程度(李合生2003)。从图5和6中可以看出, 根系和叶片中的MDA随处理浓度的增加总体呈递增的趋势, 胁迫处理下的MDA含量均高于对照的, 但0.4% Na_2CO_3 处理下MDA含量与对照组相差较小, 0.8%和1.2% Na_2CO_3 处理下MDA含量显著高于对照($P < 0.05$), 且在1.2% Na_2CO_3 浓度处理

下MDA含量最多; 同一浓度下, 随着处理时间的延长, MDA呈先急剧增加后缓慢上升的趋势, 但不同处理间增加幅度有所差异, 而根系中MDA值明显小于叶片, 且可以看出在 Na_2CO_3 浓度在0.8%和1.2%时, ‘KWS0143’的MDA含量较‘Beta464’低, 说明‘KWS0143’较‘Beta464’耐盐碱性强。

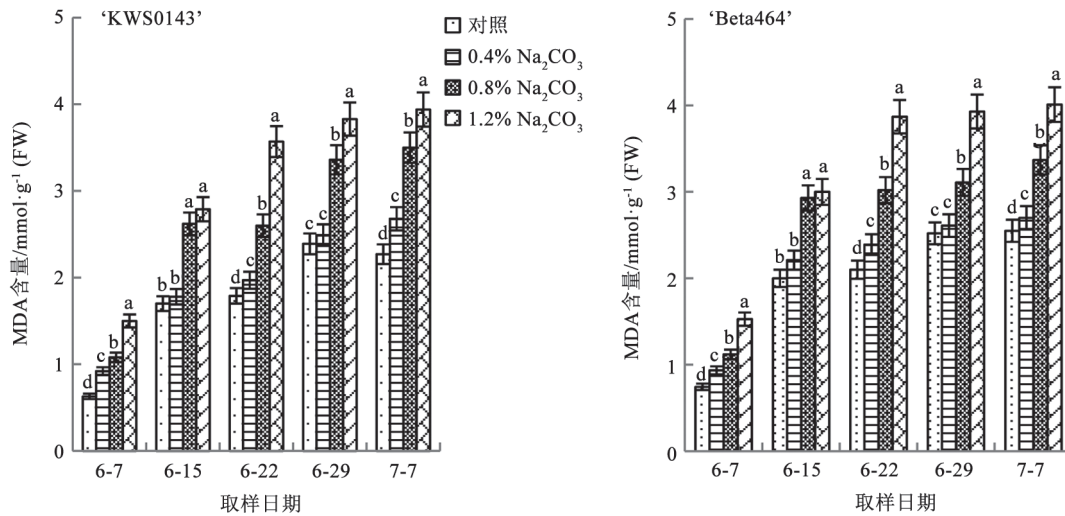
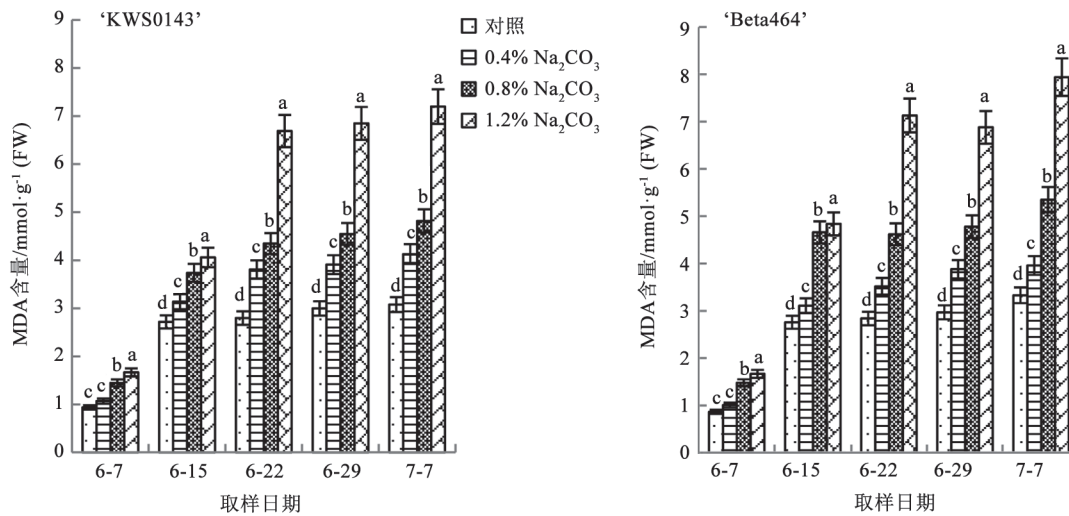
讨 论

盐碱胁迫造成了植株生理干旱、吸水困难, 并制约着作物产量的形成, 其有害作用包括离子过多产生的渗透胁迫, 与此同时, 还涉及土壤碱性

图3 Na₂CO₃胁迫对甜菜根系POD活性的影响Fig.3 Effects of Na₂CO₃ on the POD activities in roots of sugar beet图4 Na₂CO₃胁迫对甜菜叶片POD活性的影响Fig.4 Effects of Na₂CO₃ on the POD activities in leaves of sugar beet

对植株根系造成的伤害,进而影响植株的正常生长。随着土壤中盐碱浓度的增加,土壤溶液中盐离子含量增多,植物吸收水分受到影响,不同作物水分吸收的情况有所差异,生物产量也有明显的不同。有研究表明,在盐胁迫条件下,甜菜(王俊强2010)、补血草(李妍2009)及冬小麦(刘丽云2007)的幼苗生长、根长和叶长的生长受盐碱胁迫抑制作用明显;而在低浓度盐胁迫下,促进了玉米(高英等2007)和小麦(陈新红等2008)的根系及幼苗生长。本试验研究表明,一定浓度的碳酸钠处理,促

进了甜菜植株生长,增加了幼苗的干、鲜重,0.4%浓度处理下干鲜重显著高于对照水平($P < 0.05$),当浓度超过0.8%处理后,植株干鲜重则显著低于对照水平($P < 0.05$)。说明低浓度处理,促进了植株的增长,而高浓度盐碱胁迫下,植株体内的盐分逐渐增多,提高了细胞液的渗透压和细胞质的粘滞性,影响细胞的生长与分裂,以及盐碱处理浓度的增加造成土壤水势的降低,严重阻碍了根系对水分的吸收,最终影响了植株的生长及生物量的增长;与此同时,Na₂CO₃也引起了土壤pH的变化,可能影

图5 Na₂CO₃胁迫对甜菜根系MDA含量的影响Fig.5 Effects of Na₂CO₃ on the MDA contents in roots of sugar beet图6 Na₂CO₃胁迫对甜菜叶片MDA含量的影响Fig.6 Effects of Na₂CO₃ on the MDA contents in leaves of sugar beet

响着植物要分泌一些酸类代谢物质缓冲调节体内pH, 但这是个耗能的过程, 也会制约植株的生长。同时植株的生物量能够直观的反应甜菜幼苗的生长状态, 并直接体现了植株的耐盐碱能力, 本试验中, 0.4%低浓度盐碱胁迫下2个品种甜菜的生物量均高于对照, 高浓度处理则抑制了植株的生长。但两品种不同处理间增长率不同, 0.4%浓度处理下‘KWS0143’小于‘Beta464’, 而浓度在0.8%和1.2%处理下‘KWS0143’则大于‘Beta464’, 说明‘KWS0143’的耐盐碱程度要明显高于‘Beta464’。

胁迫条件下, SOD与POD相互协调作用, 能有效的清除活性氧, 减轻活性氧对细胞膜的伤害。MDA作为膜脂过氧化的产物, 其含量的多少在一定程度上表示了植物受伤害的程度。盐碱胁迫下, 甜菜幼苗根系和叶片中抗氧化酶活性均随着浓度的增加和时间的延长呈先升高后降低的趋势。同一取样时期, 在Na₂CO₃浓度为0.4%处理下, SOD和POD活性均高于对照, MDA增加幅度小, 说明甜菜在遭受到胁迫的同时, 根系和叶片中的保护酶做出快速反应, 提高酶的活性, 减少氧自由基对细胞

的伤害, 保护酶都将MDA控制在一定的浓度, 共同作用以保护自身免受膜脂过氧化的伤害; 当处理浓度大于0.8%时, SOD和POD活性明显低于对照, MDA值随处理浓度的增加而增加, 且1.2%处理下MDA值最高。随着胁迫时间的延长, 叶片和根中的MDA含量表现为上升的趋势, 说明MDA积累量随着时间不断积累, ROS积累量增多, 膜伤害加重。两品种比较, 1.2%高浓度时对‘Beta464’伤害较大, 产生的MDA速度大于‘KWS0143’, 而‘KWS0143’的MDA在高浓度处理下MDA产生量与0.8%相差不多, 表现出较强的耐盐碱能力。这进一步从保护酶和膜质过氧化方面揭示了甜菜对盐碱胁迫的响应。本试验表明甜菜幼苗在碳酸钠胁迫下通过提高保护酶活性, 增强了甜菜的抗盐碱能力, ‘KWS0143’耐盐碱能力强于‘Beta464’。

参考文献

- 陈贵华, 张少英(2012). 盐胁迫对叶用甜菜抗氧化系统的影响. 内蒙古农业大学学报, 33 (1): 52~54
- 陈新红, 叶玉秀, 周青, 黄吉(2008). 盐胁迫对小麦幼苗形态和生理特性的影响. 安徽农业科学, 36 (33): 14408~14410
- 陈业婷, 李彩凤, 赵丽影, 越鹏, 王园园, 滕祥勇, 王南博(2010). 甜菜耐盐性筛选及其幼苗对盐胁迫的响应. 植物生理学通讯, 46 (11): 121~128
- 邓绍云, 邱清华(2011). 中国盐碱土壤修复研究综述. 北方园艺, (22): 171~174
- 高英, 同延安, 赵营, 樊红柱(2007). 盐胁迫对玉米发芽和苗期生长的影响. 中国土壤与肥料, (2): 30~34
- 耿贵, 周建朝, 陈丽, 刘凤海, 王志学(2004). 氯化钠胁迫下甜菜不通品种(系)种子发芽率和幼苗生长的差异. 中国糖料, (2): 14~18
- 郭艳超, 王文成, 刘同才, 刘宝清, 王玉花(2011). 盐胁迫对甜菜叶片生长及生理指标的影响. 河北农业科学, (2): 11~14
- 惠菲, 梁启全, 於丽华, 王铁军, 彭春雪, 杨云, 耿贵(2012). NaCl和KCl胁迫对甜菜幼苗生长的影响. 中国糖料, (3): 30~32
- 李合生(2003). 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 164~249
- 李蔚农, 王荣华, 王维成, 刘焕霞, 刘锦峰, 张素珍, 艾依肯(2007). NaCl胁迫对甜菜生长的影响. 中国糖料, (2): 17~19
- 李妍(2009). 多种盐胁迫对中华补血草种子萌发及幼苗生长的影响. 北方园艺, (5): 54~57
- 刘丽云(2007). 盐胁迫对不同冬小麦品种萌芽及幼苗的影响及其钙的缓解效应研究[学位论文]. 泰安: 山东农业大学, 18~24
- 曲元刚, 赵可夫(2003). NaCl和Na₂CO₃对盐地碱蓬胁迫效应的比较. 植物生理与分子生物学学报, 29 (5): 387~394
- 王俊强(2010). 干旱和盐度对甜菜发芽和生长的影响. 现代园艺, 5: 6~8
- 张志良(2004). 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 123~156
- 赵兰坡, 冯君, 王宇, 王鸿斌, 耿玉辉, 王淑华, 李春林(2012). 松嫩平原盐碱地种稻开发的理论与技术问题. 吉林农业大学学报, 34 (3): 237~241
- Rao PS, Mishra B, Gupta SR, Rathore A (2008). Reproductive stage tolerance to salinity and alkalinity stresses in rice genotypes. Plant Breed, 127: 256~261