

油葵杂交种耐盐性鉴定及幼苗对盐胁迫的生理响应

张艳芳¹, 孙瑞芬², 郭树春², 侯建华¹

1. 内蒙古农业大学农学院, 呼和浩特 010019

2. 内蒙古农牧业科学院, 呼和浩特 010031

摘要 以油葵杂交种 P6、P29、P65、S13 和 P50 为试验材料, 采用土培 300、350 和 400 mmol/L 3 个不同浓度 NaCl 和水培 100、120 和 150 mmol/L 3 个不同浓度 NaCl 胁迫处理的植株进行形态观察, 并对水培 120 mmol/L NaCl 胁迫处理第 9 天的植株进行耐盐性鉴定; 水培 120 和 150 mmol/L NaCl 胁迫处理, 测定 P50 和 P29 的可溶性蛋白含量、Pro 含量、MDA 含量、SOD 活性和 POD 活性 5 项耐盐相关生理生化指标, 探讨不同油葵杂交种间对盐胁迫的响应差异。结果表明: 1) 5 个油葵杂交种幼苗的耐盐性表现为 P50 > P65 > P6 > S13 > P29。其中 P50 和 P65 的盐害指数分别为 0 和 5.83%, 为极强耐盐类型; S13 和 P6 的盐害指数分别为 40.28% 和 51.39%, 为中度耐盐类型; P29 的盐害指数为 80.83%, 为盐敏感类型。2) P50 和 P29 品种间比较, 5 项指标呈现极显著差异; 3) 同一品种的不同浓度间比较, 5 项指标呈现极显著差异, 不同浓度 NaCl 胁迫下, 随处理时间的延长, P50 的可溶性蛋白含量呈现升高的趋势, P29 呈先升后降的趋势; P50 和 P29 的 Pro 含量、SOD 活性和 POD 活性的变化趋势相似, 呈现先升高后降低的趋势; P50 和 P29 的 MDA 含量呈现升高的趋势。研究表明, 盐逆境对油葵幼苗的生长有明显伤害, 但 P50 与 P29 受到的伤害差异程度达极显著, 整体上 P50 表现出对盐胁迫具有较强抗性。

关键词 油葵; 盐胁迫; 耐盐性; 生理生化指标

全世界盐渍土面积约 897.0 万 km²^[1], 根据农业部第二次土壤普查资料统计, 中国盐渍土面积约有 35 万 km², 约占国土总面积的 3.6%^[2]。盐胁迫是自然界中主要的非生物胁迫之一, 非生物胁迫给农业带来巨大的损失, 目前已经严重影响世界范围内许多重要作物的产量。土壤中过多的可溶性盐会使植物吸收水分的能力受限, 使植物在形态、生理、生化上发生改变, 从而导致植物生长受阻。盐胁迫可能是由离子胁迫和渗透胁迫导致的氧胁迫等的二次胁迫^[3]。在进化过程中, 植物形成了许多应对盐碱胁迫的能力, 包含生理、生化以及分子水平上的响应等, 这是绿色植物中普遍存在的一种生理生化过程。植物的抗氧化作用是植物自身适应性调节的一个重要方面, 植物对盐碱的耐受能力可以通过许多指标来评价。人们在许多作物上进行了耐盐方面的深入研究, 例如甜菜、黄瓜、棉花、茄子、小麦等, 这些研究揭示了植物耐盐是个复杂的现象, 依赖许多相关因素。

向日葵 (*Helianthus annuus* L.) 生长对土壤要求不严, 对盐碱有较强的耐性, 被誉为盐渍土上的先锋作物, 经济价值高, 是生物治理盐碱及开发盐碱地的首选作物之一。因此,

向日葵耐盐相关研究对揭示植物的耐盐机理可以起到举足轻重的作用。郑青松等^[4]发现向日葵对盐分的适应主要取决于盐分在根系和茎秆的积累。颜宏等^[5]研究发现 NaCl 胁迫处理可不同程度地减少向日葵叶片、茎、根中的 K⁺ 含量, 增加 Na⁺ 的吸收, 有效诱导向向日葵中游离脯氨酸 (Pro) 积累来参与渗透调节。王桂芹等^[6]认为杂交油葵比食用葵具有更强的耐盐碱性, 杂交油葵的耐盐碱性与其根部外皮层栓质化, 茎叶中的通气组织密切相关。张俊莲等^[7]研究发现盐逆境对向日葵叶面积的影响大于对株高的影响, 使质膜特有的选择性功能丧失。低盐胁迫伤害主要是气孔因素造成的, 高盐胁迫伤害则主要来自非气孔因素。岳云等^[8]认为丙二醛、膜透性可以反映油葵受盐胁迫的生理状况, 株高、叶面积可以作为油葵植株受盐胁迫时的表型指标。油葵耐盐能力强, 可以在土壤盐含量 8.5 g/kg 以下的环境中生长, 但土壤中盐含量大于 5.5 g/kg 时产量下降显著。孔东等^[9]认为油葵苗期对盐分较敏感, 全生育期土壤盐分含量高于 5 g/kg 时, 严重抑制作物生长, 最高减产率可达 45.15%。唐奇志等^[10]利用海水处理向日葵幼苗发现, 它对植物的影响是渗透作用、营养作用和毒害

收稿日期: 2015-08-24; 修回日期: 2016-03-02

基金项目: 内蒙古农牧业创新基金项目 (2013CXJJN14)

作者简介: 张艳芳, 博士, 研究方向为向日葵生物技术, 电子信箱: 35812653@qq.com; 侯建华 (通信作者), 教授, 研究方向为作物抗性遗传改良, 电子信箱: Houjh68@163.com

引用格式: 张艳芳, 孙瑞芬, 郭树春, 等. 油葵杂交种耐盐性鉴定及幼苗对盐胁迫的生理响应[J]. 科技导报, 2016, 34(7): 94-102; doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2016.07.008

作用共同作用的结果,低浓度的海水对植物的伤害可被植物自身的缓解功能抵消,甚至可促进植物的生长。陈全战等^[11]认为适当浓度的CaCl₂处理可有效减轻盐胁迫对油葵幼苗的伤害。卢精林等^[12]研究发现外源VC能不同程度地提高盐胁迫下油葵种子发芽率、发芽势,促进幼苗生长,缓解盐胁迫对油葵种子萌发和幼苗生长的危害。

本研究在安玉麟等^[13]研究的基础上,对P6、P29、P65、S13和P50 5个已鉴定出耐盐性差异的油葵杂交种采用不同的盐胁迫处理方法做了进一步鉴定。对鉴定出的强耐盐品种和盐敏感品种进行盐胁迫处理,比较2个油葵杂交种根的可溶性蛋白含量、游离脯氨酸含量、丙二醛含量、超氧化物歧化酶活性和过氧化物酶活性的变化情况,从生理生化方面揭示油葵对盐环境的适应性。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

安玉麟等^[13]采用群体逐级分类法对25个向日葵杂交种进行了耐盐碱鉴定和评价,筛选出2个极强耐盐碱杂交种P50(内葵杂4号)、P65和2个极弱耐盐碱类型P6、P29。本研究选取了这4份材料,又加入了前期评价过的认为具有中度耐盐性的杂交种S13,5份供试材料全部由内蒙古农牧业科学院向日葵课题组提供。

1.2 试验方法

1.2.1 材料培养

试验在内蒙古农牧业科学院植物培养室中进行。培养室温度(24±2)℃,湿度60%~70%,白炽灯照射,光照16 h,光照强度1.6万lx,黑暗8 h。供试杂交种选取饱满、无病虫害的种子,常温下浸泡24 h后,播种于装有等量蛭石的上口直径16.5 cm、下口直径12 cm、高12 cm的塑料盆中,每个塑料盆播种30粒种子,每个品种播种8盆。萌发后,待第1对真叶完全展开时将幼苗随机平均分成2组进行后续土培和水培试验。

1.2.2 土培NaCl胁迫处理

待第2对真叶长出时,分别均匀浇入400 mL含有0(CK)、300、350和400 mmol/L NaCl的1/2MS盐溶液胁迫处理油葵幼苗,每个处理重复3次,每重复每品种1盆,每盆30株。对植株生长状况进行观察、记载并拍照。

1.2.3 水培NaCl胁迫处理

将第1对真叶完全展开的油葵幼苗从蛭石中取出,用清水洗净根部,转移到1/2MS营养液中进行培养,培养期间每天更换1次新鲜的培养液。待第2对真叶长出后,将幼苗分别转移到含有0(CK)、100、120、150 mmol/L NaCl的1/2MS盐溶液中进行不同NaCl浓度胁迫处理,每天更换1次盐处理液。每个处理重复3次,每重复每品种1盆,每盆30株。同上进行观察、记载并拍照。

1.2.4 杂交种耐盐性鉴定

参考刘翔等^[14]对番茄苗期耐盐性鉴定的方法,并结合向

向日葵盐害后表现制定耐盐分级标准。水培条件下,当浓度为100 mmol/L时,5个品种的盐害症状差异不明显,当浓度达到150 mmol/L时,5个品种都表现出盐害症状,无法进行分级。因此,选择了既能反应出品种间明显的耐盐性差异,又能保证后续试验得到准确有效数据的水培120 mmol/L作为耐盐性鉴定的胁迫处理浓度。水培120 mmol/L的NaCl胁迫处理后第9天,对油葵幼苗的根、下胚轴、叶等形态性状的观测分级(分级标准见表1),根据受害程度记录参试植株各盐害等级株数。

表1 耐盐分级标准

Table 1 Grade standard of salt tolerance

盐害级别	耐盐表现
0	植株均为健康植株,正常生长,与对照无差别,无叶片萎蔫
1	根、下胚轴和叶均有生长量,与对照差别很小,少数叶片萎蔫
2	根、下胚轴和叶生长量与对照相比有明显下降,叶片半数萎蔫
3	根、下胚轴和叶生长量很小,半数以上叶片萎蔫
4	根、下胚轴和叶均无生长量,叶片全部萎蔫

盐害指数(%)=[∑(代表级数×该级植株数)/(最高级数×总株数)]×100%

统计盐害指数,根据品种盐害类型分类标准将5个杂交种分类(品种盐害分类标准见表2)。选出极强耐盐品种和盐敏感品种各1个。

表2 品种盐害类型分类标准

Table 2 Classification standard of various salt tolerance types

耐盐类型	盐害指数范围/%
极强耐盐类型	0~20
强耐盐类型	20~40
中等耐盐类型	40~60
弱耐盐类型	60~80
盐敏感类型	80~100

1.2.5 生理生化指标测定

以筛选出的极强耐盐品种和盐敏感品种为材料,进行水培0(CK)、120和150 mmol/L NaCl胁迫处理,分别取对照和处理的油葵幼苗各9株,每3株为1次重复,即3次重复。将根系剪下,用蒸馏水洗净、吸干水分,测定胁迫后0、1、2、3、4和5天的可溶性蛋白含量、Pro含量、MDA(丙二醛)含量、SOD(超氧化物歧化酶)活性和POD(过氧化物酶)活性。测定方法按照试剂盒(南京建成生物工程研究所)说明书进行,可溶

性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 法测定;Pro 含量采用酸性茚三酮法测定;MDA 含量采用 TBA 法测定;SOD 活性采用黄嘌呤氧化酶法测定;POD 活性采用过氧化物酶催化过氧化氢反应原理测定。

1.2.6 统计分析

每个指标重复测定 3 次,试验数据采用 Microsoft Excel 2003 应用软件进行数据处理和绘图,采用 SPSS 17.0 统计分析软件对数据进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 土培 NaCl 胁迫处理油葵杂交种耐盐性比较

用土培方法进行 NaCl 梯度胁迫处理,在 300、350 和 400 mmol/L 3 个 NaCl 梯度胁迫处理下,5 个油葵品种幼苗与对照相比,生长均表现出不同程度的抑制,且品种间表现出明显

的耐盐性差异。油葵品种幼苗的耐盐性表现为 $P50 > P65 > P6 > S13 > P29$ 。试验结果见图 1。

2.2 水培 NaCl 胁迫处理油葵杂交种耐盐性比较

用水培方法进行 NaCl 梯度胁迫处理,在 100、120 和 150 mmol/L 3 个浓度下,5 个油葵品种幼苗与对照相比,生长均表现出不同程度的抑制,且品种间表现出明显的耐盐性差异。5 个油葵品种幼苗的耐盐性表现为 $P50 > P65 > P6 > S13 > P29$ 。试验结果见图 2。

2.3 油葵杂交种 NaCl 胁迫方法与浓度效应比较

两种 NaCl 胁迫处理方法,5 个油葵品种幼苗的盐害症状表现一致。不同浓度 NaCl 胁迫对耐盐性不同的油葵品种幼苗的影响不同,表现为高浓度 NaCl 胁迫伤害较大,而低浓度 NaCl 胁迫伤害较小(图 1、图 2)。

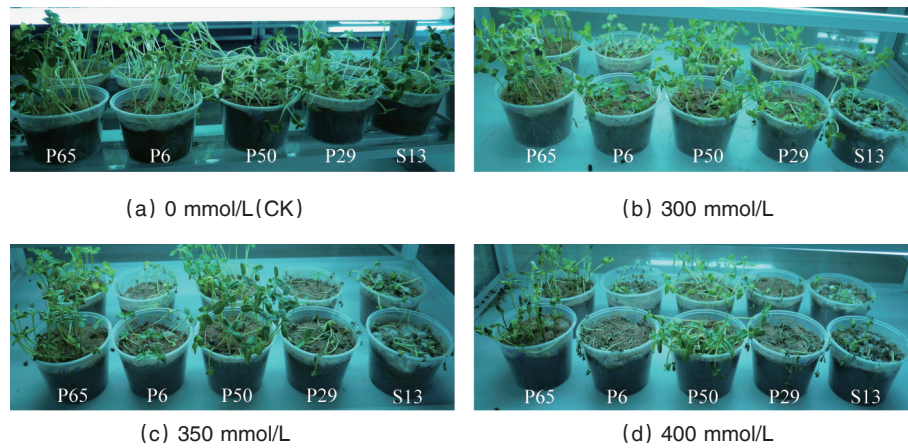


图 1 土培条件下不同浓度 NaCl 胁迫处理 5 个油葵品种的耐盐性差异比较

Fig. 1 The differences of 5 oil sunflower hybrids under soil culture at different NaCl stress concentrations

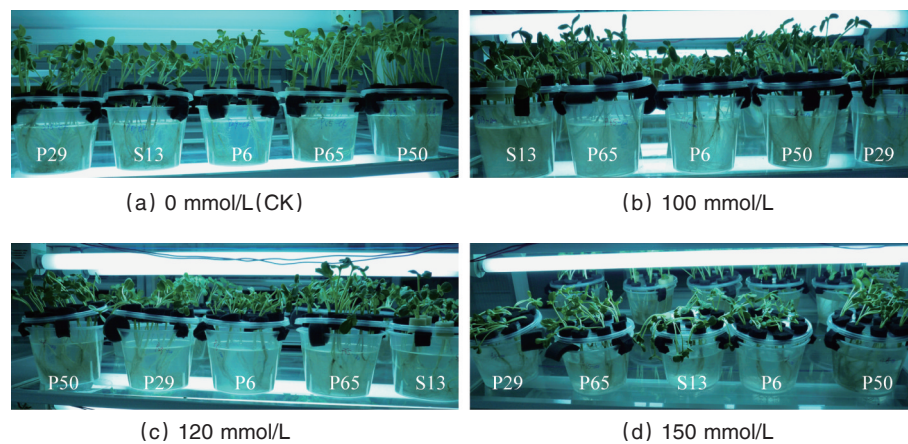


图 2 水培条件下不同浓度 NaCl 胁迫处理 5 个油葵品种的耐盐性差异比较

Fig. 2 The differences of 5 oil sunflower hybrids under water culture at different NaCl concentrations

2.4 油葵品种幼苗期耐盐性筛选

外部形态特征能够体现作物生长发育状况。对 5 个油葵品种幼苗的根、下胚轴、叶等形态性状的观测分级,可以较为

直观地判断供试材料幼苗对盐浓度的耐受情况。统计 5 个品种盐敏感差异表现,根据综合评价结果,确定 5 个油葵品种幼苗的耐盐类型,统计结果见表 3。P50 和 P65 为极强耐盐类

型,幼苗新根生长旺盛,植株正常生长,成活能力强;S13、P6为中度耐盐类型,新根生长、植株生长量均受抑制;P29为盐敏感类型,根生长能力受到严重影响,植株生长受到抑制。

表3 5个油葵品种的盐害指数及耐盐类型

Table 3 Salt tolerance indexes and types of 5 hybrid oil sunflowers

品种	盐害指数/%	耐盐类型
P50	0	极强耐盐类型
P65	5.83	极强耐盐类型
S13	40.28	中等耐盐类型
P6	51.39	中等耐盐类型
P29	80.83	盐敏感类型

2.5 不同浓度 NaCl 胁迫处理对 P50 和 P29 的耐盐性生理生化指标的影响

2.5.1 对 P50 和 P29 的可溶性蛋白含量的影响

可溶性蛋白是植物重要大分子渗透调节剂,当植物受到

逆境胁迫时,可参与渗透调节^[15-17]。在不同浓度 NaCl 胁迫下,随处理时间延长,P50 的可溶性蛋白含量整体呈现升高的趋势。第 1~5 天的可溶性蛋白含量均比对照有所增高,在第 1 天和第 2 天增高幅度较大,120 mmol/L NaCl 胁迫,分别增加 20.15%、24.99%;150 mmol/L NaCl 胁迫,分别增加 16.51%、20.38%。测定结果如图 3(a) 所示。在不同浓度 NaCl 胁迫条件下,随处理时间延长,P29 的可溶性蛋白含量整体呈现先升高后降低的趋势,低浓度 NaCl 胁迫下可溶性蛋白含量较高浓度胁迫下高。第 1 天的可溶性蛋白含量比对照有所增高,120 mmol/L NaCl 胁迫,增加 46.54%;150 mmol/L NaCl 胁迫增加 24.76%。第 2~5 天均比对照有所下降,120 mmol/L NaCl 胁迫,第 3 天下降幅度最大,下降 10.09%,之后下降幅度变缓;150 mmol/L NaCl 胁迫,从第 2 天开始持续急速下降,第 2~5 天分别下降 18.53%、31.77%、34.93%、45.97%。测定结果如图 3 (b) 所示。说明,即使高浓度的盐胁迫 P50 的渗透调节物质仍在增加,用来抵御盐胁迫对其造成的伤害,而 P29 即便在低浓度盐胁迫下,渗透调节也受到了影响。

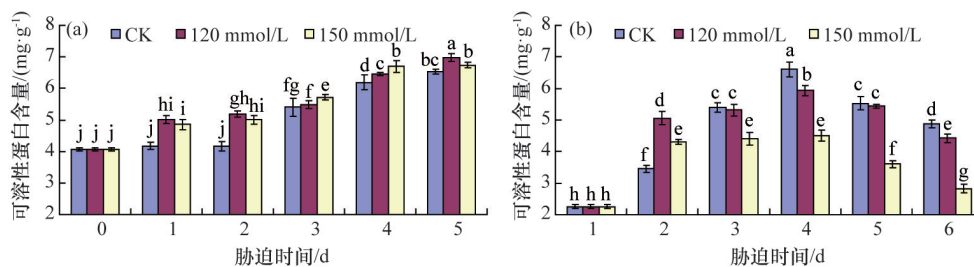


图3 P50(a)和P29(b)在不同浓度NaCl胁迫下可溶性蛋白含量变化趋势

Fig. 3 The trends of soluble protein content of P50 (a) and P29 (b) at different concentrations of NaCl

2.5.2 对 P50 和 P29 的 Pro 含量的影响

Pro 是渗透胁迫下易于积累的一种氨基酸,在维持胞质溶胶与环境之间渗透平衡和保持膜结构的稳定性方面起重要作用^[18]。Pro 积累是植物抵抗渗透胁迫的有效方式之一。在持续 NaCl 胁迫下,植物体内的 Pro 便会大量积累,且积累指数与植物的抗逆性有关。

在不同浓度 NaCl 胁迫下,随处理时间延长,P50 的 Pro 含量整体呈现先升高后降低的趋势,高浓度 NaCl 胁迫 Pro 含量较低浓度胁迫高,升高增幅大。第 1~5 天的 Pro 含量均比对照有所增高,第 3 天增高幅度最大,120 mmol/L NaCl 胁迫,增加

164.41%;150 mmol/L NaCl 胁迫,增加 288.29%,之后增加幅度逐渐减小。测定结果如图 4(a) 所示。在不同浓度 NaCl 胁迫条件下,随处理时间延长,P29 的 Pro 含量整体呈现先升高后降低的趋势,高浓度 NaCl 胁迫 Pro 含量较低浓度胁迫高,升高增幅大。120 mmol/L NaCl 胁迫,第 1 天增加幅度最大,增加 56.96%;150 mmol/L NaCl 胁迫,第 3 天增加幅度最大,增加 102.55%。测定结果如图 4(b) 所示。在持续 NaCl 胁迫下,P50 和 P29 的 Pro 都大量积累,P50 较 P29 的积累指数大,P50 能更好地维持胞质溶胶与环境之间的渗透平衡,使膜结构更加稳定,抗逆性更强。

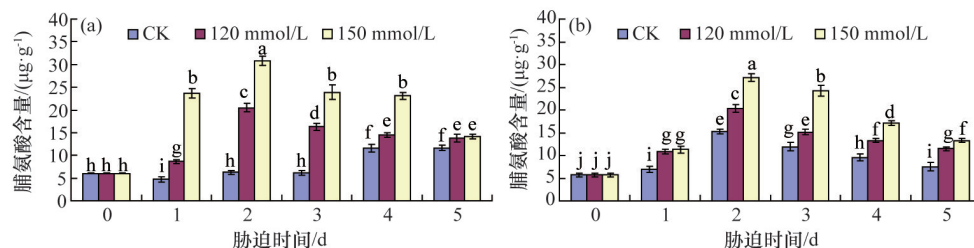


图4 P50(a)和P29(b)在不同浓度NaCl胁迫下Pro含量变化趋势

Fig. 4 The trends of Pro content of P50 (a) and P29 (b) at different concentrations of NaCl

2.5.3 对P50和P29根部膜质过氧化的影响

植物器官衰老时或在逆境条件下,往往发生膜质过氧化作用,MDA是膜质过氧化的重要产物之一,能够反映植物细胞膜受损伤的程度,通常利用它作为脂质过氧化指标,表示细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件反应强弱。MDA在一定盐胁迫范围内,可作为鉴定植物耐盐性的生理指标。

在不同浓度NaCl胁迫下,随处理时间延长,P50的MDA含量整体呈现升高的趋势,高浓度NaCl胁迫MDA含量较低浓度胁迫高,升高增幅大。第1~5天的MDA含量均比对照有所增高,120 mmol/L NaCl胁迫,第1天和第2天增高幅度较大,分别增加113.22%和113.35%,之后增加幅度变缓;150 mmol/L NaCl胁迫,第1~5天都有极大的增幅,第3天增高幅

度最大,增加181.83%,测定结果如图5(a)所示。当NaCl胁迫浓度低时,P50的细胞膜受到伤害还基本可以修复,当NaCl胁迫加重后,P50的细胞膜受到明显的伤害。在不同浓度NaCl胁迫下,随处理时间延长,P29的MDA含量整体呈现升高的趋势,高浓度NaCl胁迫MDA含量较低浓度胁迫高,升高增幅大。第1~5天的MDA含量均比对照有所增高,120 mmol/L NaCl胁迫,第3天增高幅度最大,增加85.31%;150 mmol/L NaCl胁迫,第1~5天都有极大的增幅,第3天增高幅度最大,增加142.75%,测定结果如图5(b)所示。在低浓度NaCl胁迫下,P29的MDA含量变化已经很大,高浓度NaCl胁迫下,变化更大。当NaCl胁迫浓度低时,P29的细胞膜已经受到明显的伤害。

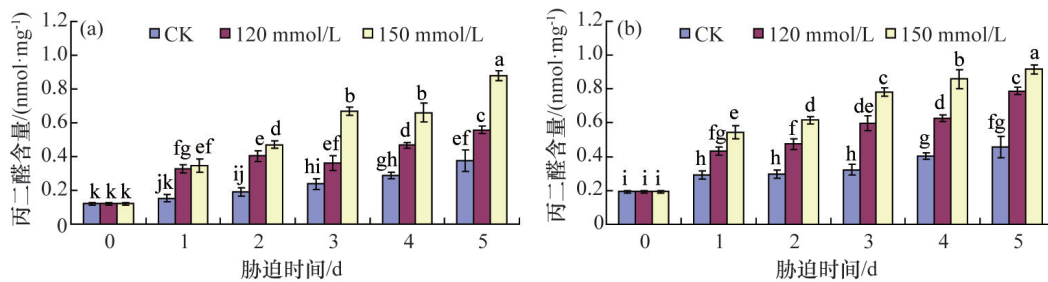


图5 P50(a)和P29(b)在不同浓度NaCl胁迫下MDA含量变化趋势

Fig. 5 Variation trends of MDA content of P50 (a) and P29 (b) at different concentrations of NaCl

2.5.4 对P50和P29的保护酶活性的影响

植物体内广泛存在着抗氧化酶系统,包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)等。在逆境胁迫下,抗氧化酶系统能诱发植物体产生抗氧化防御系统来清除产生的自由基,维持体内的自由基平衡,减轻逆境对细胞的伤害。

1) 对SOD活性的影响。SOD是反映植物抗逆性的一个重要指标。SOD广泛存在于各类生物体中,是机体内O^{2·-}的天然消除剂。当植物受到胁迫时,能催化生物体内超氧自由基(O^{2·-})发生歧化反应,通过SOD活性来增强抗逆性^[19,20],并与植物的抗逆性成正相关。

在不同浓度NaCl胁迫下,随处理时间的延长,P50的SOD活性整体呈现先升高后降低的趋势,高浓度NaCl胁迫下SOD

活性较低浓度胁迫下高,升高增幅大。第1~5天的SOD活性均比对照的有所增高,120 mmol/L NaCl胁迫,第1天增高幅度最大,增加10.24%,之后增加幅度变缓;150 mmol/L NaCl胁迫,第2天增高幅度最大,增加37.23%,测定结果如图6(a)所示。

在不同浓度NaCl胁迫下,随处理时间延长,P29的SOD活性整体呈现先升高后降低的趋势,高浓度NaCl胁迫较低浓度胁迫SOD活性高,升高增幅大。第1~5天的SOD活性均比对照有所增高,120 mmol/L NaCl胁迫,第4天增高幅度最大,增加10.82%,之后增加幅度变缓;150 mmol/L NaCl胁迫,第3天增高幅度最大,增加45.13%,测定结果如图6(b)所示。说明P50和P29都可以增强SOD活性来抵御逆境带来的伤害。

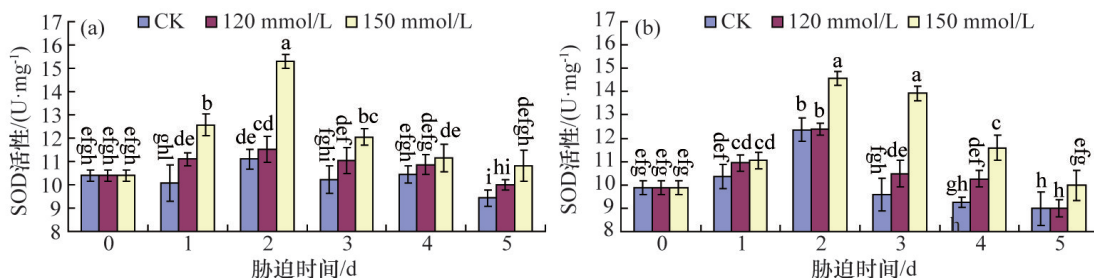


图6 P50(a)和P29(b)在不同浓度NaCl胁迫下SOD活性变化趋势

Fig. 6 The trends of SOD of P50 (a) and P29 (b) at different concentrations of NaCl

2) 对 POD 活性的影响。POD 是植物体内酶促防御系统的重要保护酶之一。POD 可清除膜脂过氧化作用产生的活性氧,降低细胞膜的损伤,提高植物的抗逆性。POD 活性高低反映了植物受逆境胁迫程度。

在不同浓度 NaCl 胁迫下,随处理时间延长,P50 的 POD 活性整体呈现先快速升高后缓慢下降最后趋于恒定的趋势。第 1~5 天的 POD 活性均比对照有所增高,第 2 天增高幅度最大,120 mmol/L NaCl 胁迫,增加 33.02%;150 mmol/L NaCl 胁迫,增加 53.00%,测定结果如图 7(a)所示。在不同浓

度 NaCl 胁迫下,随处理时间延长,P29 的 POD 活性整体呈现先升高后降低的趋势。第 1~3 天的 POD 活性均比对照有所增高,第 4~5 天较对照下降,第 2 天增高幅度最大,120 mmol/L NaCl 胁迫,增加 26.09%;150 mmol/L NaCl 胁迫,增加 34.39%,测定结果如图 7(b)所示。P50 和 P29 都可以增强 POD 活性来抵御逆境带来的伤害。但是,P50 即使受到高盐胁迫,POD 仍然可以保持较高的活性,而 P29 受到持续盐胁迫后 POD 活性降低,清除膜脂过氧化的能力下降。

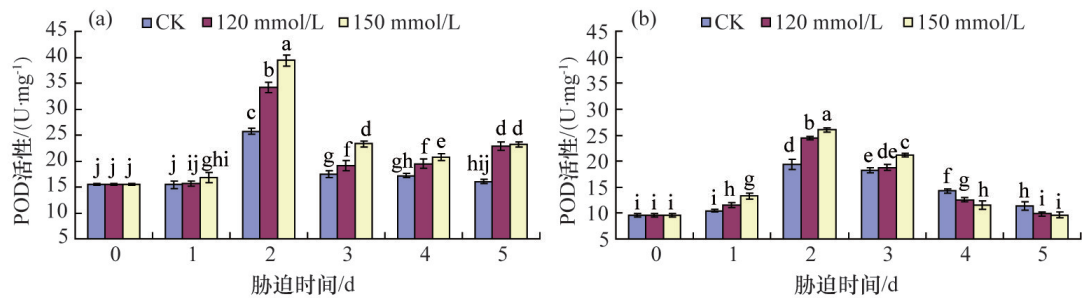


图 7 P50(a)和 P29(b)在不同浓度 NaCl 胁迫下 POD 活性变化趋势

Fig. 7 The trends of POD of P50 (a) and P29 (b) at different concentrations of NaCl

2.6 不同浓度 NaCl 胁迫处理 P50 和 P29 各项生理指标间的差异显著性分析

P50 和 P29 品种间比较,5 项生理生化指标呈现极显著差异,品种间的差异显著性分析见表 4。说明 P50 和 P29 在抵御盐胁迫能力上存在很大的差异。P50 和 P29 各项生理指标的方差分析见表 5。

表 4 P50 和 P29 品种间生理生化指标的差异显著性分析
Table 4 Significant difference analysis of physiological and biochemical indexes of P50 and P29

测定指标	P50	P29
可溶性蛋白含量/(mg·g ⁻¹)	5.38A	4.36B
Pro 含量/(μg·g ⁻¹)	13.76A	12.9B
MDA 含量/(nmol·mg ⁻¹)	0.5A	0.37B
SOD 活性/(U·mg ⁻¹)	11.05A	10.8B
POD 活性/(U·mg ⁻¹)	20.73A	14.5B

注:同行不同字母表示不同品种组间在 0.01 水平存在显著性差异。

3 讨论

采用水培 NaCl 胁迫鉴定有以下优点:NaCl 在水溶液中能够均匀分布,可以与植株根系充分接触;与土培种植法胁迫处理相比,水培处理可以严格控制 NaCl 浓度,减少实验误差,提高鉴定结果的准确性。因此本试验选定水培 NaCl 胁迫处理作为后续试验的处理方法。

生长受到明显抑制是植物对盐胁迫响应最敏感的生理过程^[21-23]。植物的耐盐性与植物的生理生化特性密切相关,生理生化指标是耐盐性鉴定中应用最广泛的指标,但是目前没有可靠的生理鉴定标准。影响植物耐盐能力的因素很多,关于植物耐盐性鉴定的指标在学界也有多种观点。Baiwli 等^[24]和肖雯等^[25]认为与耐盐有关的生理指标包括可溶性蛋白、MDA、Pro、SOD 和 POD 等,具有比较明确的指示意义,可作为植物耐盐性评价的重要参考指标。植物受到盐害,体内的可溶性蛋白、Pro、MDA、SOD 和 POD 活性总体呈现的变化,可以直接反应植物的耐盐性。

向日葵幼苗遭受盐逆境常常出现叶色变淡、生长缓慢、萎蔫甚至死亡等直观表现和体内生理指标的改变,如脯氨酸含量增加、膜透性增大、保护性酶活性增强等。由于植物生理和组织结构的不同,植物对盐胁迫的忍受能力存在差异。唐奇志等^[10]、刘鹏等^[26]研究表明,向日葵幼苗脯氨酸含量随着外界盐浓度的增加而升高。本研究中 P50 和 P29 的脯氨酸含量均随着盐浓度的增加而升高,与以上研究者的结果一致。王婧等^[27]认为盐胁迫会造成向日葵幼苗膜系统破坏,耐盐性不同的向日葵品种受到的伤害不同,本研究也得出类似结论,即 P29 的 MDA 含量较 P50 的 MDA 含量高,说明盐胁迫使 P29 的膜系统受损严重。刘海学等^[28]认为一定范围内 NaCl 浓度的增大会促进向日葵幼苗保护性酶活性的增强。裴怀弟等^[29]的研究结果表明盐胁迫下,油葵通过增强 SOD 和 POD 活性来抵御逆境对其所造成的伤害,本研究中 P50 和 P29 的 SOD 活性在不同浓度 NaCl 胁迫下均比对照升高,与以上研究结果一致。

表5 P50和P29各项生理生化指标的方差分析

Table 5 Variance analysis results of physiological and biochemical indexes of P50 and P29

方差分析	变异来源	可溶性蛋白含量 /(mg·g ⁻¹)	Pro 含量 /(μg·g ⁻¹)	MDA 含量 /(μmol·mg ⁻¹)	SOD 活性 /(U·mg ⁻¹)	POD 活性 /(U·mg ⁻¹)
自由度	品种	1	1	1	1	1
	NaCl 浓度	2	2	2	2	2
	处理时间	5	5	5	5	5
	品种×NaCl 浓度	2	2	2	2	2
	品种×处理时间	5	5	5	5	5
	NaCl 浓度×处理时间	10	10	10	10	10
	品种×NaCl 浓度×处理时间	10	10	10	10	10
	误差	70	70	70	70	70
均方	品种	28.11	19.75	0.42	1.65	1049.93
	NaCl 浓度	2.75	858.64	0.87	29.90	98.94
	处理时间	16.22	428.59	0.55	22.00	587.50
	品种×NaCl 浓度	5.17	71.01	0	0.04	35.80
	品种×处理时间	6.45	21.42	0	1.05	59.69
	NaCl 浓度×处理时间	0.83	71.65	0.05	2.79	22.87
	品种×NaCl 浓度×处理时间	0.64	26.89	0.01	1.43	7.75
	误差	0.01	0.41	0	0.15	0.27
F 值	品种	2012.88	47.59	472.89	11.16	3951.25
	NaCl 浓度	196.79	2069.13	986.77	202.75	372.35
	处理时间	1161.59	1032.81	627.89	149.17	2210.97
	品种×NaCl 浓度	370.27	171.12	5.51	0.27	134.71
	品种×处理时间	461.75	51.61	5.21	7.13	224.63
	NaCl 浓度×处理时间	59.35	172.66	56.86	18.95	86.06
	品种×NaCl 浓度×处理时间	45.85	64.81	6.40	9.68	29.15

虽然向日葵的耐盐性是多基因控制的复合遗传性状,但是通过对2个耐盐性有差异的向日葵品种在盐胁迫下生理生化指标的变化趋势的研究,能够从生理生化的层面上寻找向日葵的耐盐机理。今后,可以将上述研究与控制这些生理生化指标的关键基因的盐胁迫响应模式相结合,从分子水平揭示向日葵响应盐胁迫的耐盐机理,并为耐盐优异基因的挖掘、通过分子育种手段提高植物耐盐性奠定基础。

4 结论

在不同NaCl浓度胁迫下,以土培、水培两种栽培方式处理油葵品种幼苗的耐盐性存在差异。通过对P50和P29的生理生化指标的测定,发现NaCl胁迫对耐盐品种和盐敏感品种的油葵幼苗均有伤害,NaCl浓度越高伤害越大,但是总体来说强耐盐品种受到伤害小,盐敏感品种受到的伤害大。P50

和P29的各项生理生化指标在同一品种不同浓度、不同品种相同浓度胁迫下均体现出不同的差异,充分说明了耐盐品种和盐敏感品种对盐渍环境的忍耐能力有所不同。P50的大多数生理生化指标在胁迫初期变化较明显,随胁迫时间延长变化趋于平缓,说明P50在一定浓度NaCl胁迫下自身有一定调节能力,以减少NaCl对其造成的伤害;P29的大多数生理生化指标在胁迫初期变化较明显,随胁迫时间延长迅速下降,说明即使低浓度的NaCl胁迫,对P29也会造成伤害,P29对盐渍环境的忍耐能力较差。

参考文献(References)

- [1] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance[J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59: 651-681.
- [2] 俞仁培, 陈德明. 我国盐渍土资源及其开发利用[J]. 土壤通报, 1999, 30(4): 158-159.

- Yu Renpei, Chen Deming. Saline soil resources and its exploitation and utilization in China[J]. Chinese Journal of Soil Science, 1999, 30(4): 158-159.
- [3] Zhu Jiankang. Plant salt tolerance[J]. Trends in Plant Science, 2001, 6: 66-71.
- [4] 郑青松, 刘兆普, 刘友良, 等. 盐和水分胁迫对海蓬子、芦荟、向日葵幼苗生长及其离子吸收分配的效应[J]. 南京农业大学学报, 2004, 27(2): 88-90.
- Zheng Qingsong, Liu Zhaopu, Liu Youliang, et al. Effects of salt and water stresses on growth and ionic absorption and distribution in *Salicornia europaea*, *Aloe vera* and *Helianthus annuus* seedlings[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2004, 27(2): 88-90.
- [5] 颜宏, 赵伟, 孙玲玲. 水盐浸种对 NaCl 胁迫下向日葵幼苗渗透调节物质的影响[J]. 作物杂志, 2013(3): 131-135.
- Yan Hong, Zhao Wei, Sun Lingling. Planting division of oat in *Bashang platau*[J]. Crops, 2013(3): 131-135.
- [6] 王桂芹, 段亚军. 向日葵不同品种耐盐碱性与解剖结构比较研究[J]. 昭乌达蒙族师专学报, 2002, 23(6): 34-36.
- Wang Guiqin, Duan Yajun. Comparative study on salt tolerance and anatomical structure of different cultivars of different varieties of sunflower[J]. Journal of Zhaowuda Mongolian Teachers College, 2002, 23(6): 34-36.
- [7] 张俊莲, 陈勇胜, 武季玲, 等. 向日葵对盐逆境伤害的生理反应及耐盐性研究[J]. 中国油料作物学报, 2003, 25(1): 45-49.
- Zhang Junlian, Chen Yongsheng, Wu Jiling, et al. Physiological responses to salt stress and salt tolerance of sunflower[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2003, 25(1): 45-49.
- [8] 岳云, 李福, 陈炳东, 等. 盐胁迫对油菜生理生化指标和产量影响的研究[J]. 作物杂志, 2011(2): 32-35.
- Yue Yun, Li Fu, Chen Bingdong, et al. Effects of salt stress on physiological and biochemical indexes and yield of oil sunflower[J]. Crops, 2011(2): 32-35.
- [9] 孔东, 史海滨, 霍再林, 等. 河套灌区不同盐分含量土壤对向日葵生长的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2004, 35(5): 414-416.
- Kong Dong, Shi Haibin, Huo Zailin, et al. Effects on growth of sunflower under different saline soils in the Hetao irrigation area[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2004, 35(5): 414-416.
- [10] 唐奇志, 刘兆普, 陈铭达, 等. 海水处理对向日葵幼苗生长及叶片一些生理特性的影响[J]. 植物学通报, 2004, 21(6): 667-672.
- Tang Qizhi, Liu Zhaopu, Chen Mingda, et al. Effect of seawater on the growth and leaf oxidative metabolism of sunflower seedlings[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2004, 21(6): 667-672.
- [11] 陈全战, 张边江, 周峰, 等. 钙对盐胁迫条件下油菜幼苗生长速率和抗氧化酶活性的影响[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(35): 15336-15338.
- Chen Quanzhan, Zhang Bianjiang, Zhou Feng, et al. Effects of Ca on growth rate and antioxidant enzyme activities of oil sunflower seedlings under salt stress condition[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2008, 36(35): 15336-15338.
- [12] Lu Jinglin, Gao Yanjuan, Chang Yujiao, et al. Effects of exogenous VC on seed germination and physiological properties of oil sunflower (*Helianthus annuus*) under salt stress[J]. Agricultural Science & Technology, 2015(3): 500-503.
- [13] 安玉麟, 侯建华, 于海峰, 等. 耐盐向日葵杂交种鉴定筛选及机理研究[J]. 华北农学报, 2012, 27(5): 127-133.
- An Yulin, Hou Jianhua, Yu Haifeng, et al. Identification and screening of hybrid of salinity sunflower and mechanism studying of salt tolerance[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2012, 27(5): 127-133.
- [14] 刘翔, 许明, 李志文. 番茄苗期耐盐性鉴定指标初探[J]. 北方园艺, 2007(3): 4-7.
- Liu Xiang, Xu Ming, Li Zhiwen. Study on salt tolerance identification index of tomato seedling stage[J]. Northern Horticulture, 2007(3): 4-7.
- [15] 刘杰, 张美丽, 张义, 等. 人工模拟盐、碱环境对向日葵种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 作物学报, 2008, 34(10): 144-151.
- Liu Jie, Zhang Meili, Zhang Yi. Effects of simulated salt and alkali conditions on seed germination and seedling growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.)[J]. Acta Agronomica Sinica, 2008, 34(10): 144-151.
- [16] 聂惠, 于海峰, 刘浩明. 向日葵对盐胁迫的反应及其抗盐机理的研究进展[J]. 内蒙古农业科技, 2008(6): 23-25.
- Nie Hui, Yu Haifeng, Liu Haoming. Response of sunflower to salt stress and its salt resistance mechanism[J]. Inner Mongolia Agricultural Science and Technology, 2008(6): 23-25.
- [17] 胡春霞, 王秀芹. 外源水杨酸对镉胁迫下油菜渗透调节物质和保护酶活性的影响[J]. 鞍山师范学院学报, 2010, 12(2): 44-46.
- Hu Chunxia, Wang Xiuqin. Effects of exogenous salicylic acid on osmotic adjustment substance and protective enzyme activity of rape under cadmium stress[J]. Journal of Anshan Normal University, 2010, 12(2): 44-46.
- [18] 卢静君, 多立安, 刘祥君. 盐胁迫下两草种 SOD 和 POD 及脯氨酸动态研究[J]. 植物研究, 2004, 24(1): 115-119.
- Lu Jingjun, Duo Li'an, Liu Xiangjun. Changes in SOD and POD activity and free proline content of *Lolium perenne* and *Festuca elata* leaves under different levels of salt stress[J]. Bulletin of Botanical Research, 2004, 24(1): 115-119.
- [19] 王波, 宋凤斌. 燕麦对盐碱胁迫的反应和适应性[J]. 生态环境, 2006, 15(3): 625-629.
- Wang Bo, Song Fengbin. Response and adaptability of oats to saline alkali stress[J]. Ecology and Environment, 2006, 15(3): 625-629.
- [20] 杜秀敏, 殷文璇, 赵彦修, 等. 植物中活性氧的产生及清除机制[J]. 生物工程学报, 2001, 17(2): 121-125.
- Du Xiumin, Yin Wenxuan, Zhao Yanxiu, et al. Generation and removal mechanism of reactive oxygen species in plants[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2001, 17(2): 121-125.
- [21] Takemura T, Hanagata N, Sugihara K, et al. Physiological and biochemical responses to salt stress in the mangrove, *Bruguiera gymnorhiza*[J]. Aquatic Botany, 2000, 68: 15-28.
- [22] 王丽燕, 赵可夫. 玉米幼苗对盐胁迫的生理响应[J]. 作物学报, 2005, 31(2): 264-266.
- Wang Liyan, Zhao Kefu. Some physiological response of *Zea mays* under salt-stress[J]. Acta Agronomica Sinica, 2005, 31(2): 264-266.
- [23] 隋德宗. 盐胁迫对柳树无性系幼苗生长影响的研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2006.
- Sui Dezong. Effects of salt stress on seedling growth of willow clones [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2006.
- [24] Bai W B, Li P F. Effects of salt stress on growth of and absorption and transportation of K^+ and Na^+ in *L. Lactea* var. *Chinensis*[J]. Soils, 2005, 37(4): 415-420.
- [25] 肖雯, 贾恢先, 蒲陆梅. 几种盐生植物抗盐生理指标的研究[J]. 西北植物学报, 2000, 20(5): 818-825.
- Xiao Wen, Jia Huixian, Pu Lumei. Studies on physiological index of some halophytes[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2000,

- 20(5): 818-825.
- [26] 刘鹏, 何瑞霞, 孙海燕. NaCl胁迫对不同品种向日葵生理特性的影响[J]. 内蒙古民族大学学报: 自然科学版, 2006 (5): 525-527.
Liu Peng, He Ruixia, Sun Haiyan. Effect of NaCl stress on the different sunflower's seedling of physiological characteristics[J]. Journal of Inner Mongolia University for Nationalities: Natural Sciences, 2006(5): 525-527.
- [27] 王婧, 赵永敢, 逢焕成, 等. 不同食葵品种萌发期耐盐性研究[J]. 干旱地区农业研究, 2011, 29(4): 29-35.
Wang Jing, Zhao Yonggan, Pang Huancheng, et al. Study on salt tolerance of different edible sunflower cultivars in germination stage [J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2011, 29(4): 29-35.
- [28] 刘海学, 张冬梅, 丁学稳, 等. NaCl胁迫对向日葵种子萌发的影响[J]. 种子, 2011, 30(11): 24-27.
Liu Haixue, Zhang Dongmei, Ding Xuewen, et al. Effect of salt stress on seed germination of sunflower[J]. Seed, 2011, 30(11): 24-27.
- [29] 裴怀弟, 吴科生, 王红梅, 等. 混合盐胁迫对油葵保护性酶活性、细胞膜透性及其主要农艺性状的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2012, 30(1): 149-151.
Pei Huaidi, Wu Kesheng, Wang Hongmei, et al. Effects of mixed salt stress on protective enzyme activity, cell membrane permeability and main agronomic characteristics of oil sunflower[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2012, 30(1): 149-151.

Identification and screening of salinity oil sunflower hybrids and effects of salt stress on the physiological characteristics in the seedling stage

ZHANG Yanfang¹, SUN Ruifen², GUO Shuchun², HOU Jianhua¹

1. Agronomy College, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010019, China
2. Inner Mongolia Academy of Agricultural & Animal Husbandry Sciences, Huhhot 010031, China

Abstract 5 oil sunflower hybrids, P6, P29, P65, S13 and P50, are used to study the plant morphologies of the soil culture at 3 different concentrations of NaCl, 300, 350 and 400 mmol/L, and the plant morphologies of the water culture at 3 different concentrations of NaCl, 100, 120 and 150 mmol/L. The tolerance to the salt stress is identified for the water culture with 9 day's treatment of 120 mmol/L NaCl. Five physiological and biochemical indexes, including the soluble protein content, the Pro content, the MDA content, the SOD activity, and the POD activity about the salt-tolerance of water cultures of P50 and P29 are determined by two treatments of 120 and 150 mmol/L concentrations of NaCl, to investigate the different responses to the salt stress among oil sunflower hybrids. Results show: 1) The salt tolerance capacities of five oil sunflower hybrids are in the following order: P50 > P65 > P6 > S13 > P29. With respect to the degree of salt tolerance, P50 and P65 are very strong salt-tolerant types, S13 and P6 are moderate salt-tolerant types, P29 is a very weak salt-tolerant type. 2) Five indexes show a very significant difference between P50 and P29. 3) Five indexes show very significant difference by comparing with different concentrations of the same species of P29 and P50. P50 shows a strong resistance to the salt stress.

Keywords oil sunflower hybrid; salt stress; salt tolerance; physiologic and biochemical indexes

(责任编辑 王媛媛)