

氯化血红素缓解水稻幼苗期 NaCl 胁迫的生理特性研究

孟枫岩^{1,2}, 冯乃杰^{1,2,3*}, 郑殿峰^{1,2,3*}, 郭佳宝¹, 陈小凤¹, 江海龙¹, 江雄辉¹

1. 广东海洋大学滨海农业学院, 广东湛江 524088; 2. 国家耐盐碱水稻技术创新中心华南中心, 广东湛江 524088; 3. 广东海洋大学深圳研究院, 广东深圳 518108

摘 要: 盐胁迫已成为全球范围内最普遍的非生物胁迫, 严重影响作物的生长。水稻作为重要的粮食作物, 通过化控技术提高其耐盐能力具有重要意义。为研究 NaCl 胁迫对水稻幼苗生长和生理特性的影响及氯化血红素 (hemin) 缓解 NaCl 胁迫调控机制, 以黄华占和湘两优 900 为材料进行盆栽试验, 在水稻三叶一心期叶面喷施 5 $\mu\text{mol/L}$ hemin, 48 h 进行 50 mmol/L NaCl 胁迫处理。每品种设置 3 个处理, 分别为 (1) CK: 0 mmol/L NaCl+喷施蒸馏水; (2) S 处理: 50 mmol/L NaCl+喷施蒸馏水; (3) SH 处理: 50 mmol/L NaCl+5 $\mu\text{mol/L}$ hemin; NaCl 处理后 3、6、9、12 d 进行取样, 测定水稻幼苗生长参数、气体交换参数及生理指标。结果表明: NaCl 胁迫下, 2 个水稻品种的幼苗生长受阻, 光合速率下降、活性氧激增。抗氧化酶活性在胁迫前期与 CK 相比显著增加, 但随胁迫时间的延长, 酶活性较 CK 显著下降。其中, NaCl 胁迫对黄华占的抑制作用强于湘两优 900。叶面喷施 hemin 增加 2 个水稻品种的株高、茎基宽、生物量、总根长、根表面积、根体积和根尖数; 增强水稻叶片 SPAD 和光合能力; 减少活性氧 (O_2^- 和 H_2O_2) 积累, 降低丙二醛 (MDA) 含量和电解质渗漏率 (EL); 激活水稻叶片超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT) 和抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性及提高抗坏血酸 (AsA) 和可溶性蛋白含量。结果表明, NaCl 胁迫对水稻幼苗产生抑制作用, 叶面喷施 hemin 可通过提高净光合速率、抗氧化物活性或含量, 降低膜脂过氧化程度来缓解 NaCl 胁迫对水稻幼苗所造成的损伤。

关键词: 水稻幼苗; NaCl 胁迫; 氯化血红素; 形态建成; 生理特性

中图分类号: S511 文献标识码: A

Hemin Alleviating the Physiological Characteristics of Rice Seedling in NaCl Stress

MENG Fengyan^{1,2}, FENG Naijie^{1,2,3*}, ZHENG Dianfeng^{1,2,3*}, GUO Jiabao¹, CHEN Xiaofeng¹, JIANG Hailong¹, JIANG Xionghui¹

1. College of Coastal Agricultural Sciences, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088, China; 2. South China Center of National Saline-Tolerant Rice Technology Innovation Center, Zhanjiang, Guangdong 524088, China; 3. Shenzhen Research Institute, Guangdong Ocean University, Shenzhen, Guangdong 518108, China

Abstract: Salt stress is the most prevalent abiotic stress globally, severely affecting crop growth. Rice is an important food crop, it is important to improve the salt tolerance of rice through chemical control technology. To further provide the theoretical basis for the application of hemin to rice cultivation under salt stress, it is important to study the adverse effects of NaCl on rice seedling growth and to understand how hemin regulating the physiological process to alleviate stress. A pot experiment was carried out with the rice varieties Huanghuazhan and Xiangliangyou 900 as the materials. During the three leaves and one heart period, after 48 hours of 5 $\mu\text{mol/L}$ hemin treatment, 50 mmol/L NaCl was applied to the corresponding cultivated soil. Each variety had three treatments, (1) control group: distilled water, (2) S group:

收稿日期 2022-11-16; 修回日期 2022-12-03

基金项目 广东省重点领域研发计划项目 (No. 2020B020219004); 广东省教育厅普通高校重点领域专项 (No. 2021ZDZX40-27); 广东省大学生创新创业训练计划项目 (No. S202210566032)。

作者简介 孟枫岩 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 作物逆境生理。*通信作者 (Corresponding author): 冯乃杰 (FENG Naijie), E-mail: fengnj@gdou.edu.cn; 郑殿峰 (ZHENG Dianfeng), E-mail: zhengdf@gdou.edu.cn。

50 mmol/L NaCl solution; and (3) SH group: 50 mmol/L NaCl +5 μ mol/L hemin solution. Measurements of seedlings growth characteristics, gas exchange parameters, and physiological indicators were taken after the 3rd, 6th, 9th and 12nd days after NaCl treatment, respectively. NaCl stress inhibited the seedling growth of the two rice varieties, reduced the photosynthetic rate, and increased reactive oxygen species. Compared with CK, the antioxidant enzymes activities of S group increased significantly in the early stage, but decreased significantly as the extension of stress time. Among them, the inhibitory effect of NaCl stress on Huanghuazhan was stronger than that of Xiangliangyou 900. Compared with NaCl treatment, exogenous hemin increased plant height, stem base width, biomass, total root length, root surface area, root volume, and root tip number of the two rice varieties. Hemin inhibited reactive oxygen species (O_2^- and H_2O_2) accumulation, decreased malondialdehyde (MDA) content, and electrolyte leakage (EL). The photosynthetic capacity and SPAD were enhanced. The activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT), and ascorbate peroxidase (APX) were increased. Meanwhile, the ascorbic acid (AsA) and soluble protein levels were up-regulated in leaves. The results of this experiment indicate that NaCl stress inhibit rice seedlings, and the application of hemin can mitigate the damage caused by NaCl stress on rice seedlings by enhancing the net photosynthetic rate, increasing antioxidant activity or content, and reducing membrane lipid peroxidation.

Keywords: rice seedlings; NaCl stress; hemin; morphogenesis; physiological characteristics

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.02.017

近年来, 由于高温和干旱等极端天气的增加和工业污染的排放, 土壤盐渍化程度逐渐加剧。据不完全统计, 世界范围内已有 20% 的农田和近 50% 的耕地受到盐渍化的影响, 这严重限制了作物的生长和产量^[1-2]。我国沿海滩涂面积约 2×10^6 hm^2 , 其中滨海盐渍土面积高达 5×10^6 hm^2 , 引起土地资源的浪费和生态环境的恶化, 产生重大经济损失。盐胁迫对植物产生渗透胁迫、离子毒害和氧化损伤等多种伤害。首先, 高浓度盐导致土壤渗透势降低, 植物吸水困难, 气孔部分关闭, 光合作用强度减弱, 从而减缓植物生长发育^[3]。此外, 盐胁迫下, 植物细胞活性氧激增, 引发膜脂过氧化作用, 细胞膜系统受损^[4]。水稻 (*Oryza sativa*) 作为一种中度盐敏感作物, 其幼苗期极易受盐胁迫影响, 出现生长受阻、老叶死亡和绿叶失绿等现象^[5]。大量研究表明喷施植物生长调节剂可有效提高水稻的耐盐性。例如, 外源海藻酸钠寡糖 (AOS) 显著增加盐胁迫下水稻 FL478 和 IP29 幼苗的茎基宽和生物量^[6]。外源钙可改善盐胁迫对水稻幼苗光合作用的损害, 提高叶片叶绿素含量, 增强抗氧化酶活性^[7]。低浓度一氧化氮供体硝普钠 (SNP) 能有效减少水稻幼苗叶片膜脂过氧化产物的积累, 提高抗氧化能力, 增强抗盐性^[8]。向警等^[9]研究表明褪黑素 (MT) 通过增加可溶性蛋白等渗透调节物质的表达量来缓解盐胁迫对水稻糯稻 89-1 的抑制作用。

氯化血红素 (hemin) 作为一种新型植物生长调节剂, 由一分子亚铁络合原卟啉而成, 是天然血红素 (heme) 的体外基团氯代物, 其化学性质

与血红素相似^[10], 可协调植株地上部与地下部的生长^[11-12]。研究表明, hemin 作为高效抗逆剂, 可以有效缓解植物的重金属、盐碱、干旱等多种非生物胁迫^[13-14]。外源 hemin 可缓解盐胁迫对小麦叶片^[15]的伤害和对大豆萌发率的抑制作用^[16]。此外, hemin 可提高盐溶液下武育梗 3 号水稻种子的萌发率^[17]。但目前有关 hemin 诱导苗期水稻抵御盐胁迫的研究鲜见报道。三叶一心期正值水稻移栽前的关键时期, 采取化控技术提高秧田期水稻幼苗的抗逆性, 对沿海滩涂地带或盐碱地种植水稻育苗移栽具有重要的意义。因此本研究以 2 个水稻品种黄华占和湘两优 900 为材料, 研究三叶一心期叶面喷施 hemin 对盐胁迫下水稻幼苗形态建成及生理代谢的影响, 旨在揭示 hemin 增强水稻耐盐性的作用机制, 以期为盐地水稻抗逆栽培提供理论依据和技术指导。

1 材料与方法

1.1 材料

供试水稻品种为黄华占和湘两优 900, 由广东海洋大学滨海农业学院种质资源库提供。供试调节剂为氯化血红素 (hemin), 由上海长得多农业科技有限公司提供。试验用土为砖红壤过筛后与沙子按照 3 : 1 的比例混合而成。土壤理化性质为: pH 7.02、有机质 3.52 g/kg、碱解氮 1.26 mg/kg、速效磷 2.62 mg/kg、速效钾 83.39 mg/kg。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 盆栽试验于 2021 年在广东海洋大学日光温室中进行。挑选饱满完整的水稻种

子,用 3%过氧化氢消毒 15 min 后,用蒸馏水多次冲洗,直至彻底冲洗干净,于 30 ℃ 黑暗条件下清水浸种和催芽各 24 h。取露白一致的种子点播于规格为 19 cm×14 cm×17 cm 的无孔塑料盆中,每盆装入约 3 kg 试验用土,每盆 65 株。播种前 1 d,按照每千克试验用土尿素 0.07 g、氯化钾 0.0625 g 和磷酸二铵 0.1 g 的比例,溶于清水中,每盆均浇灌 800 mL。正常水分管理至幼苗生长到三叶一心期,在晴天无风的下午 17:00 左右,叶面喷施 5 μmol/L hemin (由预试验确定的最佳浓度),以喷施等量清水为对照,每片叶子的正反面湿润不流滴为宜。48 h 时,每盆浇灌 1 L 浓度为 50 mmol/L NaCl 溶液。之后模拟大田试验,再浇灌清水使每盆保持约 2 cm 的水层。每天利用土壤盐度计(顺科达 TR-6D)实时监测盐分,维持盐浓度在 $EC=(5.00\pm0.50)dS/m$,相当于 $(50\pm0.50)mmol/L$ 。试验采用完全随机设计,每个水稻品种分别设置 3 处理,每个处理 35 盆,即(1) CK: 0 mmol/L NaCl+喷施蒸馏水;(2) S 处理: 50 mmol/L NaCl +喷施蒸馏水;(3) SH 处理: 50 mmol/L NaCl +5 μmol/L hemin,每个处理设置 4 次重复。在 NaCl 处理后 3、6、9、12 d 进行取样,生理指标测定样品用液氮速冻 30 min,立即保存于-40 ℃ 冰箱待测。

1.2.2 测定指标与方法 (1) 生长指标测定。NaCl 胁迫 3、6、9、12 d,先用自来水清洗各处理的水稻幼苗,再用蒸馏水冲洗干净,吸水纸吸干表面水分,将地上和地下部分开,每处理选取代表群体幼苗 20 株。用直尺和游标卡尺(0.1 mm)测定单株的株高、茎基宽,用电子天平(0.0001 g)称量单株的地上部和地下部鲜重,随后将水稻幼苗置于 105 ℃ 杀青 30 min,80 ℃ 烘干至恒重,测定地上干重和根干重,计算叶片的含水量。叶片含水量=(叶片鲜重-叶片干重)/叶片鲜重×100%。

(2) 根系形态指标测定。水稻幼苗根系用台式扫描仪(Epson CORP, Japan)进行扫描,并用 WinRHIZO 根系分析软件(Regent Instruments, Quebec, Canada)对图像进行分析计算,获得根系总长度、总根表面积、总根体积和总根尖数等相关指标。

(3) SPAD 值和气体交换参数测定。NaCl 胁迫 3、6、9、12 d,用 SPAD-502 型叶绿素仪测定水稻倒二叶叶片的上、中、下 3 个部位的 SPAD 值,取平均值。同时用 LI-6800 便携式光合测定

系统在 NaCl 胁迫 3、6、9 d 上午 9:00—11:30 测定倒二叶叶片的气体交换参数,包括净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、胞间 CO_2 (C_i) 和蒸腾速率(T_r)。光合有效辐射(PAR)为 1000 μmol/(m²·s),叶室 CO_2 浓度为 400 μmol/mol,叶温为 26.0 ℃。

(4) 生理生化指标测定。分别于 NaCl 胁迫后 3、6、9、12 d 进行取样,电解质渗漏率(EL)测定参照 AFSAR 等^[18]的方法。根据 RASHEED 等^[19]描述的方法,采用硫代巴比妥酸法测定丙二醛(MDA)含量;过氧化氢(H_2O_2)含量参考 TAHJIB-UL-ARIF 等^[20]的方法,用紫外分光光度法测定;超氧阴离子(O_2^-)染色参考董亚茹等^[21]的方法。抗氧化酶活性参照《植物生理学实验指导》^[22]测定,超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑(NBT)显色法测定;过氧化物酶(POD)测定采用愈创木酚法;抗坏血酸过氧化物酶(APX)和过氧化氢酶(CAT)测定采用分光光度计法。还原型抗坏血酸(AsA)含量测定采用 4,7-二苯基-1,10-菲咯啉显色,采用考马斯亮蓝 G-250 法测定可溶性蛋白含量^[23]。

1.3 数据处理

利用 Excel 2019 软件进行数据处理,采用 SPSS 19.0 统计软件进行方差分析,3 个处理平均值间的比较采用方差分析(ANOVA),多重比较采用邓肯多重检验(Duncan's Test),用 Origin 2021 软件制图。

2 结果与分析

2.1 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻幼苗生长的影响

由表 1 和图 1 可知,黄华占和湘两优 900 在 NaCl 胁迫后生长受到抑制,各项形态指标均显著下降。NaCl 胁迫处理 3~12 d,与 CK 相比,黄华占 S 处理的茎基宽,显著下降 16.67%~20.00%,湘两优 900 S 处理的茎基宽显著减少 19.42%~24.77%。在地下部鲜重和干重方面,黄华占 S 处理较 CK 分别显著降低 56.79%~59.44%和 36.21%~54.45%,湘两优 900 S 处理的较 CK 分别显著下降 24.82%~30.68%和 22.48%~38.69%。上述结果表明 NaCl 胁迫严重抑制水稻幼苗的生长,且对黄华占地下部的抑制作用更强。NaCl 胁迫下叶面喷施 hemin 能够缓解 NaCl 胁迫对水稻幼苗生长的毒害作用,黄华占和湘两优 900 的 SH 处理形态指标在 4 个时间点均与 S 处理达到显著差异

水平。NaCl 胁迫处理 3~12 d，较 S 处理相比，黄华占 SH 处理的地上部鲜重和干重分别提高 9.98%~39.49%和 14.43%~30.96%，地下部鲜重和干重分别增加 37.71%~55.50% 和 35.04%~58.24%。湘两优 900 SH 处理与 S 处理相比地上部鲜重和干重分别提高 17.99%~29.01%和 17.37%~26.02%，地下部鲜重和干重分别增加 19.56%~25.88%和 12.29%~40.20%。上述结果说明外源 hemin 可有效缓解 NaCl 胁迫对水稻幼苗生长的抑制作用，且对黄华占的调控效果强于湘两优 900。

表 1 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻幼苗生长的影响
Tab. 1 Effects of hemin on growth of rice seedlings under NaCl stress

指标 Index	品种 Variety	处理 Treatment	处理时间 Treatment time/d			
			3	6	9	12
株高/cm	黄华占	CK	35.17±0.03 ^a	36.07±0.18 ^a	37.30±0.12 ^a	38.20±0.12 ^a
		S	32.47±0.07 ^c	33.03±0.32 ^b	34.13±0.033 ^c	35.30±0.25 ^c
		SH	34.83±0.07 ^b	35.43±0.07 ^a	35.83±0.17 ^b	36.17±0.03 ^b
	湘两优 900	CK	34.20±0.00 ^a	35.33±0.34 ^a	36.20±0.10 ^a	36.37±0.09 ^a
		S	32.30±0.15 ^c	33.00±0.00 ^c	34.00±0.20 ^c	34.77±0.13 ^c
		SH	33.50±0.29 ^b	34.10±0.06 ^b	35.23±0.12 ^b	35.47±0.13 ^b
茎基宽/mm	黄华占	CK	3.00±0.06 ^a	3.13±0.03 ^a	3.33±0.033 ^a	3.50±0.06 ^a
		S	2.50±0.06 ^c	2.53±0.03 ^c	2.67±0.033 ^c	2.63±0.03 ^c
		SH	2.73±0.03 ^b	2.83±0.07 ^b	3.00±0.00 ^b	3.03±0.07 ^b
	湘两优 900	CK	3.40±0.06 ^a	3.43±0.03 ^a	3.63±0.03 ^a	3.57±0.067 ^a
		S	2.67±0.03 ^c	2.77±0.03 ^c	2.73±0.03 ^c	2.80±0.10 ^c
		SH	3.07±0.03 ^b	3.13±0.03 ^b	3.27±0.03 ^b	3.30±0.06 ^b
地上鲜重/g	黄华占	CK	0.3084±0.0018 ^a	0.3274±0.0037 ^a	0.4214±0.0081 ^a	0.4513±0.0108 ^a
		S	0.2069±0.0024 ^c	0.2659±0.0032 ^c	0.2676±0.0024 ^c	0.3268±0.0026 ^c
		SH	0.2886±0.0010 ^b	0.2924±0.0055 ^b	0.3223±0.0033 ^b	0.4007±0.0065 ^b
	湘两优 900	CK	0.3729±0.0053 ^a	0.3842±0.0046 ^a	0.4194±0.0040 ^a	0.4727±0.0060 ^a
		S	0.2724±0.0340 ^c	0.2704±0.0007 ^c	0.3126±0.0072 ^c	0.3136±0.0106 ^c
		SH	0.3271±0.0032 ^b	0.3488±0.0111 ^b	0.3782±0.0040 ^b	0.3701±0.0070 ^b
地上干重/g	黄华占	CK	0.0690±0.0008 ^a	0.0783±0.0005 ^a	0.0922±0.0014 ^a	0.0977±0.0022 ^a
		S	0.0550±0.0004 ^c	0.0598±0.0022 ^c	0.0547±0.0008 ^c	0.0690±0.0006 ^c
		SH	0.0662±0.0002 ^b	0.0685±0.0004 ^b	0.0716±0.0019 ^b	0.0816±0.0000 ^b
	湘两优 900	CK	0.0821±0.0005 ^a	0.0850±0.0002 ^a	0.0904±0.0008 ^a	0.1082±0.0027 ^a
		S	0.0609±0.0002 ^c	0.0645±0.0004 ^c	0.0704±0.0018 ^c	0.078±30.0029 ^c
		SH	0.0768±0.0014 ^b	0.0785±0.0016 ^b	0.0827±0.0012 ^b	0.0929±0.0093 ^b
地下鲜重/g	黄华占	CK	0.1861±0.0016 ^a	0.2037±0.0049 ^a	0.2179±0.0087 ^a	0.2328±0.0264 ^a
		S	0.0776±0.0002 ^c	0.0826±0.0031 ^c	0.0906±0.0024 ^c	0.1006±0.0054 ^c
		SH	0.1159±0.0038 ^b	0.1208±0.0008 ^b	0.1248±0.0032 ^b	0.1564±0.0027 ^b
	湘两优 900	CK	0.2433±0.0041 ^a	0.2514±0.0069 ^a	0.2642±0.0247 ^a	0.2659±0.0070 ^a
		S	0.1687±0.0044 ^c	0.1824±0.0058 ^c	0.1961±0.0193 ^b	0.1999±0.0025 ^c
		SH	0.2078±0.0032 ^b	0.2107±0.0570 ^b	0.2468±0.0269 ^a	0.2390±0.0052 ^b
地下干重/g	黄华占	CK	0.0240±0.0004 ^a	0.0236±0.0002 ^a	0.0250±0.0002 ^a	0.0263±0.0009 ^a
		S	0.0109±0.0002 ^c	0.0150±0.0002 ^c	0.0147±0.0001 ^c	0.0152±0.0001 ^c
		SH	0.0173±0.0002 ^b	0.0203±0.0007 ^b	0.0211±0.0001 ^b	0.0211±0.0010 ^b
	湘两优 900	CK	0.0327±0.0008 ^a	0.0360±0.0010 ^a	0.0381±0.0018 ^a	0.0406±0.0001 ^a
		S	0.0201±0.0005 ^c	0.0279±0.0003 ^c	0.0285±0.0012 ^c	0.0295±0.0002 ^c
		SH	0.0281±0.0005 ^b	0.0314±0.0010 ^b	0.0338±0.0002 ^b	0.0332±0.0002 ^b

注：同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著（ $P<0.05$ ）。
Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

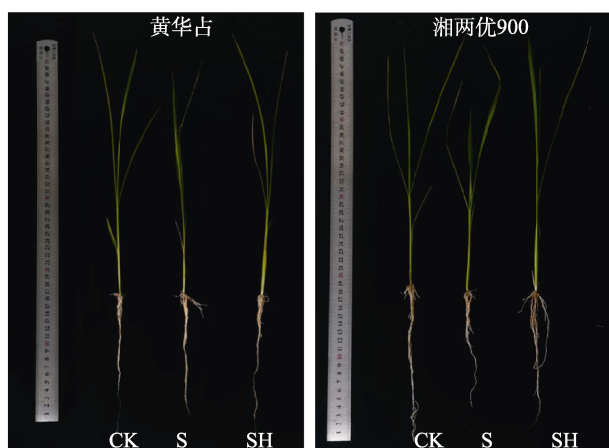
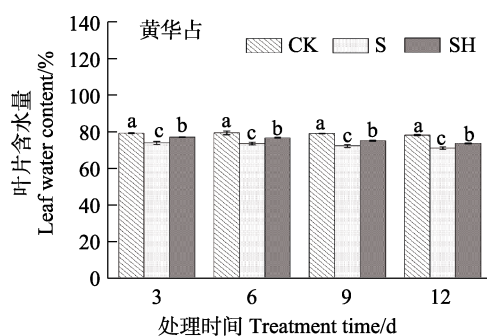


图 1 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻幼苗生长的影响 (第 3 天)

Fig. 1 Effects of Hemin on growth of rice seedlings under NaCl stress (The third day)

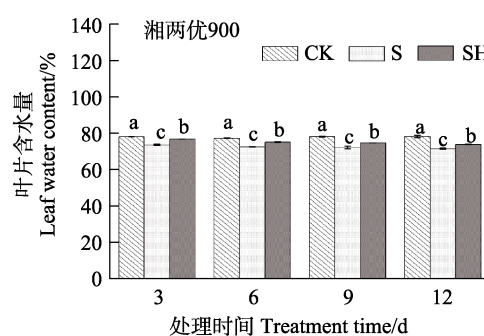
由图 2 可知,随着 NaCl 胁迫时间的增加,黄华占和湘两优 900 的叶片含水量呈逐渐下降趋势。NaCl 胁迫 3~12 d,黄华占 S 处理的叶片含水量较 CK 显著下降 6.74%~9.09%,湘两优 900 S 处理显著减少 5.78%~8.61%。NaCl 胁迫下,叶面喷施 hemin 提高黄华占和湘两优 900 的叶片含水量。其中 NaCl 胁迫 3~12 d 时,黄华占 SH 处理比 S 处理显著提高 3.62%~4.30%,湘两优 900 SH 处理显著增加 3.26%~4.27%。表明叶面喷施外源



hemin 使黄华占和湘两优 900 的叶片具有更高的含水量。

2.2 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻根系生长的影响

由表 2 可知,黄华占和湘两优 900 的 S 处理下根系总长度、总根表面积、总根体积和总根尖数均显著低于 CK。NaCl 胁迫 3~12 d,黄华占 S 处理的根系总长度、总根表面积、总根体积和总根尖数分别较 CK 降低 25.20%~34.17%、42.19%~46.26%、34.59%~59.14%和 37.15%~53.98%。湘两优 900 S 处理与 CK 相比分别下降 22.47%~30.80%、22.25%~28.69%、36.11%~49.51%和 23.17%~43.15%。NaCl 胁迫下叶面喷施 hemin 后,2 个水稻品种的根系指标在一定程度上得到提高,4 个时间点 SH 处理均与 S 处理达到显著差异。NaCl 胁迫 3~12 d,黄华占 SH 处理的根系总长度、总根表面积、总根体积和总根尖数分别较 S 处理增加 10.72%~35.29%、42.19%~46.26%、34.59%~59.14%、37.51%~53.98%;湘两优 900 SH 处理分别提高 22.47%~30.80%、22.25%~28.69%、38.60%~49.51%、23.17%~43.15%。可见,喷施外源 hemin 能够正向调控 NaCl 胁迫下 2 个水稻品种的根系生长,且对黄华占的调控效果强于湘两优 900。



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

图 2 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻叶片含水量

Fig. 2 Effects of hemin on leaf water content of rice leaves under NaCl stress

2.3 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻叶片 SPAD 值和气体交换参数的影响

由图 3 可知,NaCl 胁迫下,黄华占和湘两优 900 的 P_n 、 G_s 、 C_i 、 T_r 和 SPAD 与 CK 相比显著降低。具体表现为,NaCl 胁迫 3 d 时,黄华占 S 处理的 P_n 、 G_s 、 C_i 和 T_r 较 CK 分别显著下降 22.04%、59.82%、32.12%和 57.79%,湘两优 900 S 处理 P_n 显著下降 21.75%,其余指标与 CK 相比略有增

加但差异不显著;6 d 时,黄华占 S 处理的 P_n 、 G_s 、 C_i 和 T_r 较 CK 分别显著下降 33.55%、76.97%、50.61%和 70.97%,湘两优 900 S 处理分别显著下降 18.00%、63.18%、39.47%和 61.38%;9 d 时,黄华占 S 处理的 P_n 、 G_s 和 T_r 与 CK 相比分别显著减少 27.09%、38.64%和 35.49%,湘两优 900 S 处理的 P_n 、 G_s 、 C_i 和 T_r 与 CK 相比分别显著下降 24.75%、58.50%、22.81%和 54.39%。NaCl 胁迫

表 2 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻幼苗根系生长的影响
Tab. 2 Effects of hemin on growth of root growth of rice seedlings under NaCl stress

指标 Index	品种 Variety	处理 Treatment	处理时间 Treatment time/d			
			3	6	9	12
根系总长度/cm	黄华占	CK	739.38±0.90 ^a	643.57±4.14 ^a	811.35±22.66 ^a	940.41±22.89 ^a
		S	512.48±5.33 ^b	481.41±1.66 ^b	534.13±9.49 ^c	662.64±8.78 ^c
		SH	689.40±56.64 ^a	634.82±16.58 ^a	722.64±30.49 ^b	733.66±1.15 ^b
	湘两优 900	CK	1239.45±21.57 ^a	1272.74±29.24 ^a	1380.38±56.39 ^a	1383.84±22.05 ^a
		S	857.69±12.40 ^c	907.79±43.05 ^c	1005.27±50.94 ^b	1072.90±8.90 ^b
		SH	1110.95±53.11 ^b	1047.83±8.96 ^b	1237.53±23.31 ^a	1212.65±1.37 ^a
总根表面积/cm ²	黄华占	CK	196.99±0.48 ^a	208.71±0.39 ^a	210.40±3.86 ^a	200.50±1.41 ^a
		S	106.32±0.53 ^c	117.02±6.68 ^c	113.07±3.18 ^c	115.83±0.61 ^c
		SH	156.52±6.28 ^b	159.02±1.81 ^b	166.08±7.03 ^b	162.89±0.10 ^b
	湘两优 900	CK	213.35±0.26 ^a	239.53±3.49 ^a	234.72±5.15 ^a	230.79±16.60 ^a
		S	152.15±6.74 ^c	186.25±3.10 ^c	174.24±3.40 ^c	171.17±4.19 ^b
		SH	177.05±1.10 ^b	220.33±3.40 ^b	191.61±4.34 ^b	222.83±8.85 ^a
总根体积/cm ³	黄华占	CK	3.77±0.01 ^a	4.05±0.01 ^a	5.06±0.76 ^a	4.18±0.22 ^a
		S	1.80±0.09 ^c	1.65±0.25 ^c	2.23±0.60 ^b	2.74±0.19 ^b
		SH	2.60±0.21 ^b	2.89±0.19 ^b	4.01±0.22 ^a	3.57±0.15 ^a
	湘两优 900	CK	5.27±0.18 ^a	6.21±0.07 ^a	6.62±0.12 ^a	6.31±0.61 ^a
		S	2.66±0.37 ^c	3.42±0.15 ^c	4.06±0.10 ^b	4.03±0.39 ^b
		SH	3.70±0.08 ^b	5.30±0.08 ^b	5.94±0.38 ^a	5.73±0.17 ^a
总根尖数	黄华占	CK	2106.00±121.06 ^a	2836.00±45.03 ^a	2456.67±113.85 ^a	2846.00±49.94 ^a
		S	1175.33±98.39 ^b	1305.00±66.49 ^c	1461.50±12.41 ^c	1778.50±97.76 ^b
		SH	1910.00±247.73 ^a	2320.33±31.84 ^b	2116.33±105.88 ^b	2640.00±133.37 ^a
	湘两优 900	CK	3328.00±166.11 ^a	3479.33±166.12 ^a	3634.67±136.19 ^a	3453.67±168.41 ^a
		S	1892.06±14.40 ^c	2246.33±14.40 ^b	2457.67±79.39 ^b	2653.33±17.70 ^b
		SH	2476.67±222.74 ^b	3189.00±222.75 ^a	3418.33±243.34 ^a	3165.33±56.29 ^a

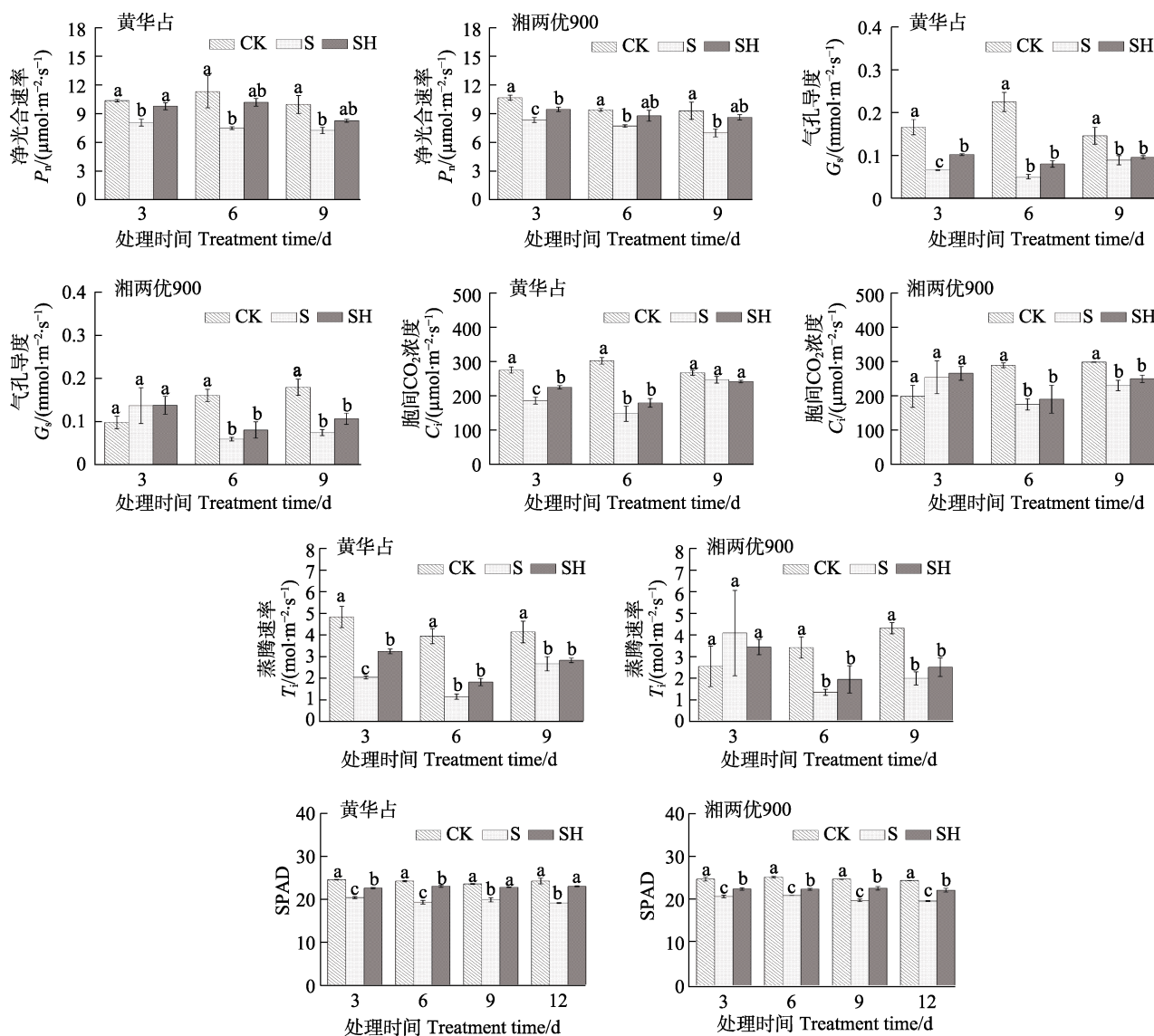
注：同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著（ $P<0.05$ ）。
Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

3~12 d, 黄华占 S 处理的 SPAD 值较 CK 显著减少 15.56%~21.15%，湘两优 900 显著减少 16.29%~19.92%。外源喷施 hemin 可缓解 NaCl 胁迫对 2 个水稻品种光合作用的损伤。NaCl 胁迫 3 d, 黄华占 SH 处理的 P_n 、 G_s 、 C_i 和 T_r 较 S 处理分别显著提高 21.06%、54.00%、20.80%和 58.90%，湘两优 900 SH 处理 P_n 显著提高 13.29%。NaCl 胁迫 6 d 时, 黄华占 SH 处理的 P_n 、 G_s 、 C_i 和 T_r 较 S 处理分别增加 35.67%、56.93%、21.10%和 59.10%，湘两优 900 SH 处理的上述指标分别增加 13.88%、35.79%、8.79%和 45.93%，但均无显著性差异。NaCl 胁迫 9 d 时, 与 CK 相比, 黄华占 SH 处理 P_n 、 G_s 和 T_r 分别增加 13.97%、7.89%和 5.91%，湘两优 900 SH 处理的 P_n 、 G_s 、 C_i 和 T_r 则分别提高 23.29%、42.62%、8.50%和 26.64%，但差异均不显著。结果表明，胁迫前期（3 d），

hemin 对 2 个水稻品种光合的调控效果更为显著，胁迫后期（6 d 和 9 d），hemin 缓解效果并不显著。NaCl 胁迫 3~12 d, 2 个水稻品种 SH 处理的 SPAD 值均得到显著提高。黄华占增加 10.78%~20.21%，湘两优 900 增加 8.36%~12.88%。

2.4 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻叶片膜损伤和 ROS 积累的影响

NaCl 胁迫下, 2 个水稻品种的叶片 EL、MDA 含量和 H_2O_2 含量随着胁迫时间的延长而增加(图 4)。在 NaCl 胁迫 3~12 d 时, 黄华占 S 处理的 EL、MDA 和 H_2O_2 含量较 CK 相比分别显著提高 28.80%~68.45%、45.04%~156.80%、10.66%~51.34%，湘两优 900 S 处理分别显著增加 36.28%~59.51%、45.88%~84.57%和 14.96%~31.93%。说明 NaCl 胁迫使水稻叶片中的 ROS 大量积累，破坏细胞膜系统的稳定。通过对水稻叶片进行 O_2^-



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

图 3 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻叶片 SPAD 和气体交换参数的影响

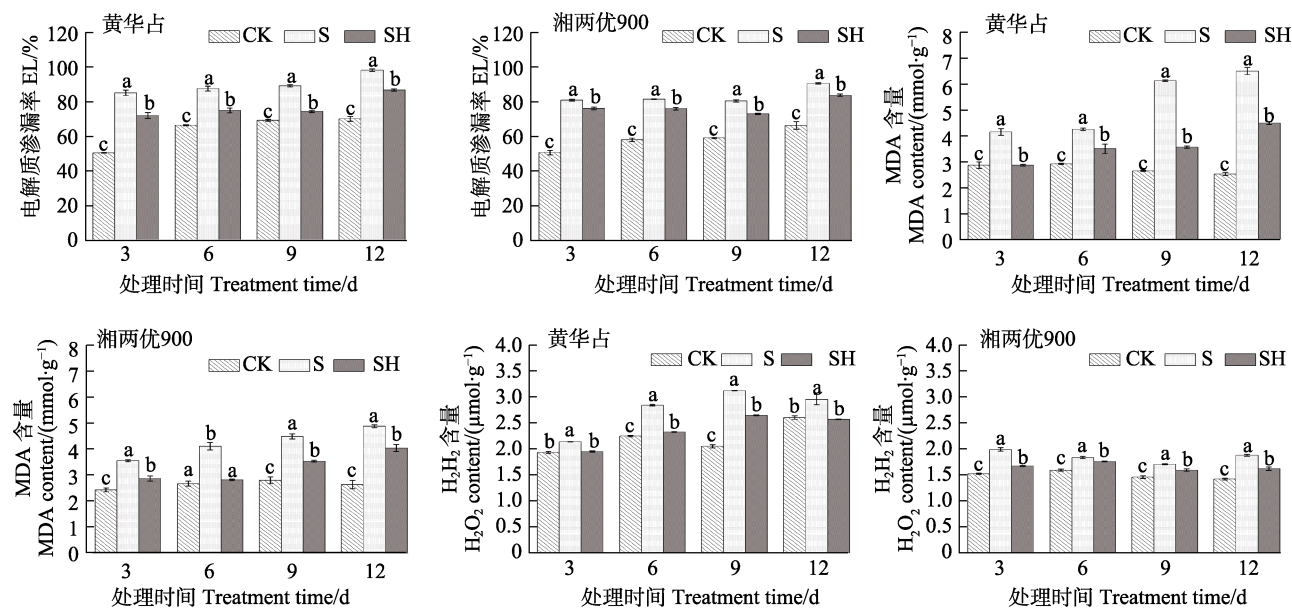
Fig. 3 Effects of hemin on SPAD and gas exchange parameters of rice leaves under NaCl stress

染色发现 (图 5), 与 CK 相比, 黄华占和湘两优 900 S 处理的水稻叶片蓝色斑点明显增多。表明 NaCl 胁迫破坏细胞膜结构, 使水稻细胞产生大量的 O_2^- 。叶面喷施 hemin 后, 可在一定程度上缓解 2 个水稻品种的膜损伤和 ROS 积累, 但含量仍显著高于 CK。在 NaCl 胁迫 3~12 d 时, 黄华占 SH 处理的 EL、MDA 和 H_2O_2 含量较 S 相比分别显著下降 11.67%~16.73%、17.74%~41.83% 和 8.93%~17.99%, 湘两优 900 SH 处理显著减少 5.78%~9.17%、17.19%~31.25% 和 4.04%~15.90%。此外, 黄华占和湘两优 900 SH 处理的 O_2^- 染色与 S 处理相比叶片蓝色斑点明显减少。这些结果表

明外源添加 hemin 后, 显著减少水稻叶片 ROS 的积累, 维持细胞膜的稳定性, 且 hemin 对黄华占的调控效果强于湘两优 900。

2.5 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻叶片抗氧化物质的影响

由图 6 可知, 随着胁迫时间的延长, 黄华占和湘两优 900 的抗氧化酶活性在前期与 CK 相比显著提高, 末期则显著下降。黄华占 S 处理的 SOD、POD、CAT 和 APX 活性分别在 3~6 d、3~6 d、3~9 d 和 3~9 d 显著高于 CK, 12 d 时上述酶活性均显著低于 CK。湘两优 900 S 处理的 SOD、POD、CAT 和 APX 分别在 3 d、3~9 d、3~12 d 和 3~9 d



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

图4 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻叶片膜损伤和 ROS 积累的影响

Fig. 4 Effect of exogenous hemin on membrane damage and ROS content of rice leaves under NaCl stress

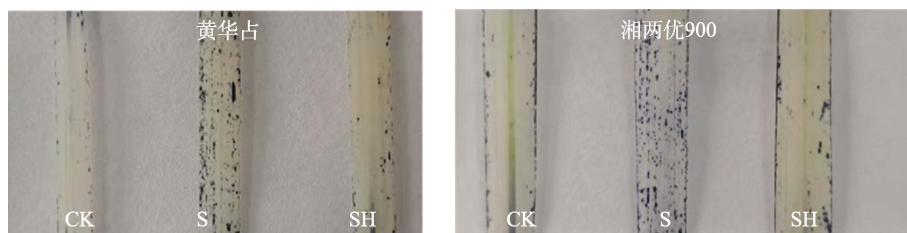


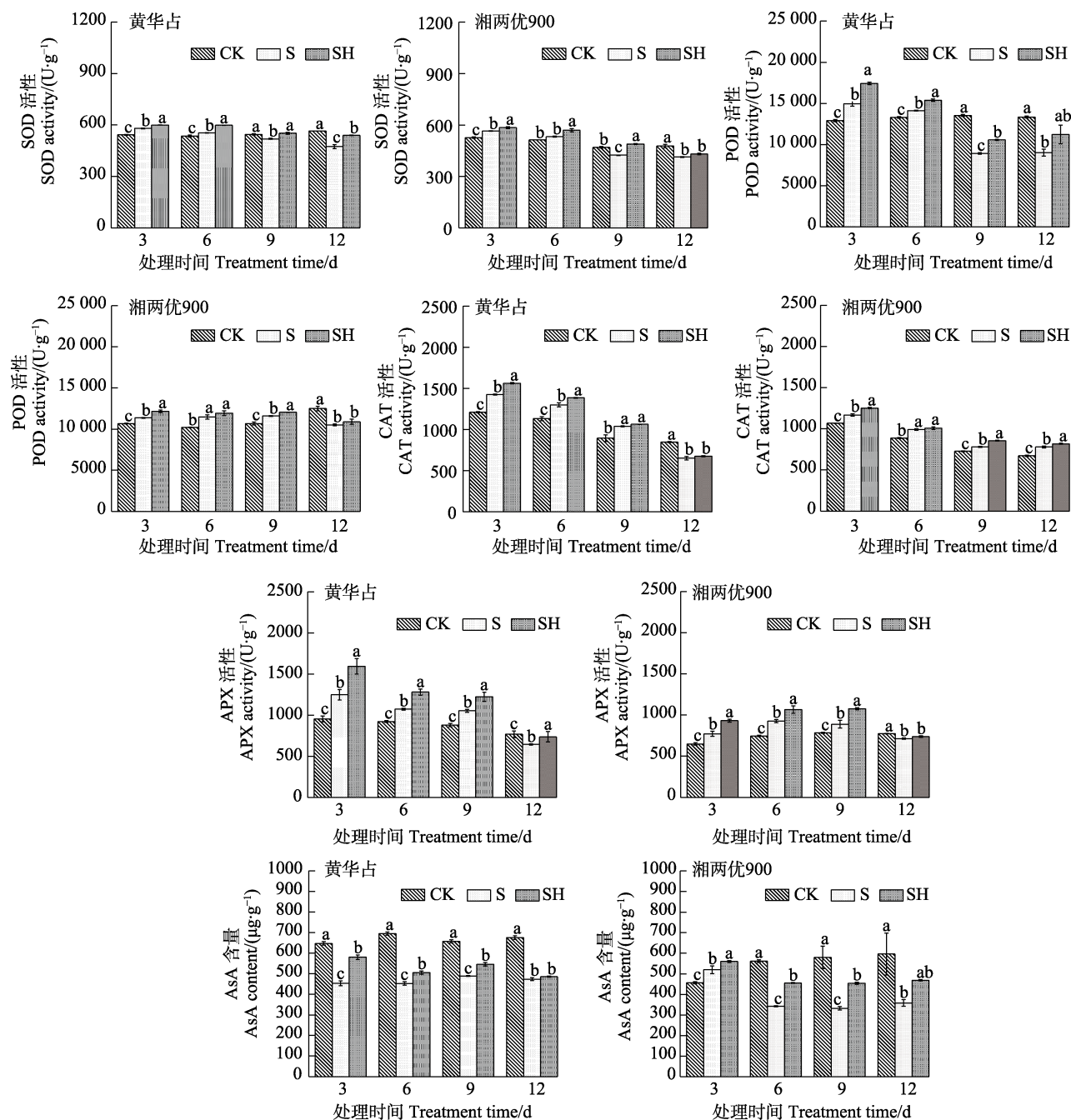
图5 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻叶片超氧阴离子 (O_2^-) 影响 (第3天)

Fig. 5 Effect of exogenous hemin on O_2^- of rice leaves under NaCl stress (The third day)

显著高于 CK, SOD 在 9~12 d、POD 和 APX 在 12 d 时显著低于 CK。以上结果表明面对外界环境的胁迫, 植物先产生应激反应, 而后随着胁迫时间的增加, 植物的抗氧化酶系统遭到破坏。叶面喷施 hemin 处理进一步提高 2 种水稻叶片的抗氧化酶活性, 其中黄华占 SH 处理较 S 处理的 SOD 活性在 3~12 d 显著上升 3.37%~13.87%; POD 活性在 3~9 d 时显著增加 8.92%~18.46%, 12 d 时增加 24.57%, 但差异不显著; CAT 活性在 3、6 d 时分别提高 9.73%和 6.57%; APX 活性在 3~12 d 显著上升 14.34%~27.70%。湘两优 900 SH 处理较 S 处理的 SOD 活性在 3~12 d 上升 3.53%~15.38%; POD 活性在 3、9 d 时分别显著增加 6.99%和 3.92%; CAT 活性在 3、9、12 d 时分别显著提高 7.17%、9.81%和 4.89%; APX 活性在 3~9 d 显著上升 14.94%~21.20%。说明 hemin 能够增强 NaCl 胁迫下黄华占和湘两优 900 水稻幼苗的抗氧化酶

活性, 从而提高其抗氧化能力。

NaCl 胁迫对 2 个水稻品种的非酶抗氧化剂 AsA 含量产生不同的影响 (图 6)。NaCl 胁迫 3~12 d 时, 黄华占 S 处理的 AsA 含量显著低于 CK。湘两优 900 S 处理的 AsA 含量在 NaCl 胁迫 3 d 显著高于 CK, 在 NaCl 胁迫 6、9、12 d 时则显著低于 CK。结果显示, 与黄华占相比, 湘两优 900 自身的抗氧化系统在 NaCl 胁迫时发挥一定作用。NaCl 胁迫 3、6、9、12 d, 黄华占 S 处理的 AsA 含量较 CK 显著减少 29.93%、34.91%、25.62%和 29.94%。NaCl 胁迫 6、9、12 d, 湘两优 900 S 处理较 CK 分别下降 39.04%、42.70%和 39.88%。经 hemin 处理后, 黄华占和湘两优 900 的 AsA 含量得到进一步的提高。NaCl 胁迫 3、6、9 d 时, 黄华占 SH 处理较 S 处理分别显著提高 27.97%、11.73%和 11.67%, 湘两优 900 SH 处理分别显著提高 7.81%、33%和 36.52%。而 NaCl 胁迫 12 d



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

图 6 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻叶片抗氧化物质的影响

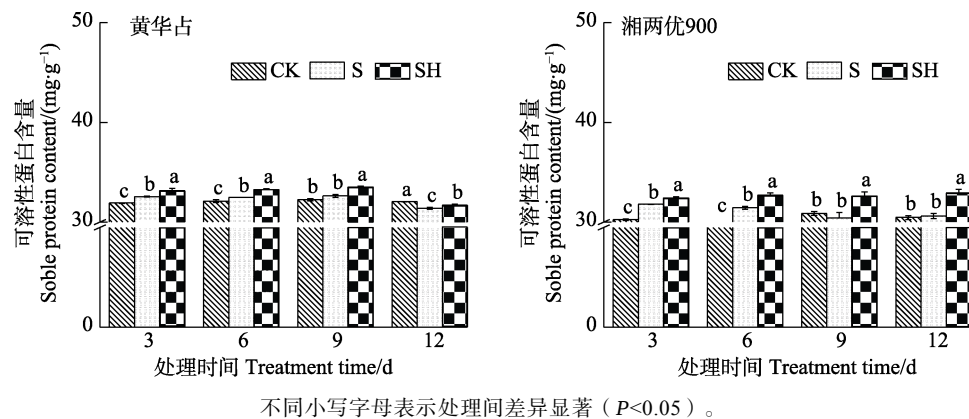
Fig. 6 Effect of exogenous hemin on antioxidant content of rice seedling under NaCl stress

时, 黄华占和湘两优 900 的 SH 处理 AsA 含量较 S 处理分别增加 2.57% 和 30.77%, 但均未达到显著水平。可见, hemin 可以提高 AsA 含量, 促进水稻叶片清除 ROS。

2.6 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻叶片可溶性蛋白含量的影响

由图 7 可知, NaCl 胁迫下, 黄华占和湘两优 900 S 处理的可溶性蛋白含量呈先上升后下降的

趋势。NaCl 胁迫 3、6 d 时, 黄华占 S 处理的可溶性蛋白含量较 CK 处理分别显著提高 2.01% 和 1.15%, 在 NaCl 胁迫 9 d 时含量增加但不显著, 而 12 d 时, 其含量显著降低 2.21%。在 NaCl 胁迫 3、6 d 时, 湘两优 900 S 处理组与 CK 相比, 可溶性蛋白含量显著提高 5.14% 和 4.82%, 胁迫 9、12 d 时, 其含量与 CK 相比无显著差异。外源添加 hemin 后, 有效增加 2 个水稻品种叶片的可溶



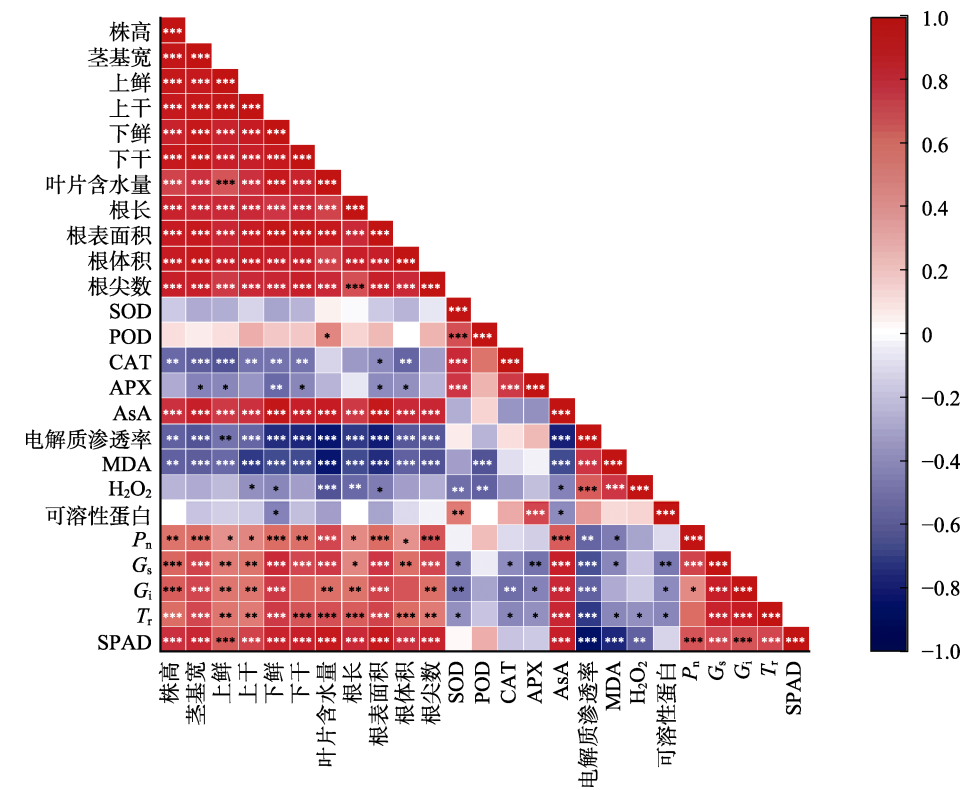
不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。
Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).
图 7 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻叶片可溶性蛋白含量的影响
Fig. 7 Effect of exogenous hemin on contents of soluble protein in rice leaves under NaCl stress

性蛋白含量。NaCl 胁迫 3~12 d，黄华占 SH 处理显著增加 0.97%~2.72%，湘两优 900 SH 处理组显著增加 1.94%~7.59%。上述结果表明，hemin 促进水稻叶片渗透调节物质的产生，维持细胞稳态。

2.7 黄华占和湘两优 900 各指标间的相关性分析

由图 8 可知，黄华占的形态指标（株高、茎基宽、地上部干/鲜重、地下部干/鲜重及含水量）与

光合指标（ P_n 、 G_s 、 C_i 及 T_r ）、SPAD 值和 AsA 含量均呈显著或极显著正相关，与 MDA 含量和电解质渗透率呈显著或极显著负相关。根系指标（根长、根表面积、根体积及根尖数）与形态指标具有相同规律，即与光合指标、SPAD 值和 AsA 含量呈显著或极显著正相关，与 MDA 含量和电解质渗透率呈显著或极显著负相关。MDA 含量与 POD 活性及 AsA 含量呈极显著负相关， H_2O_2 含量与 SOD、POD



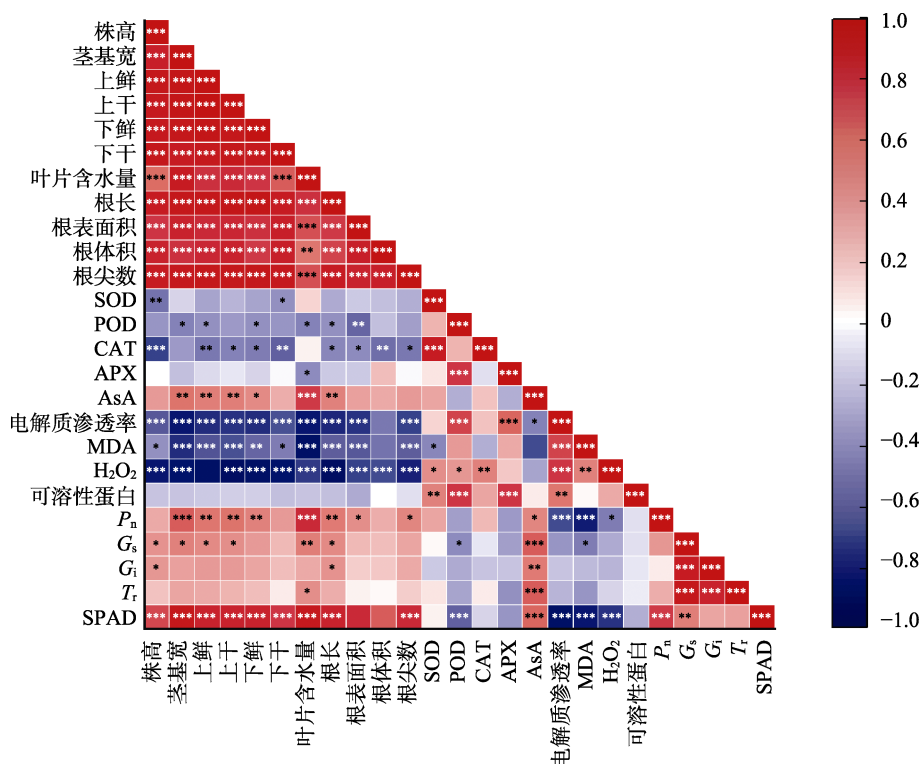
*表示显著相关 ($P<0.05$)；**、***表示极显著相关 ($P<0.01$ 、 $P<0.001$)。
* indicates significant correlation ($P<0.05$); **, *** indicates extremely significant correlation ($P<0.01$, $P<0.001$).

图 8 黄华占所测指标间的相关性分析
Fig. 8 Correlation analysis between the measured indicators of Huanghuazhan

活性、及 AsA 含量呈显著或极显著负相关。

由图 9 可知, 湘两优 900 形态指标 (株高、茎基宽、地上部干/鲜重、地下部干/鲜重及含水量) 和根系指标均与 SPAD 值呈极显著正相关, 均与电解质渗漏率、MDA 及 H_2O_2 含量呈显著或极显著负相关。光合指标 P_n 与茎基宽、地上鲜/干重、地下鲜重、叶片含水量、根长、根表面积及根尖

数呈显著或极显著正相关, G_s 与株高、茎基宽、地上鲜/干重、叶片含水量及根长呈显著或极显著正相关, 而与其他形态和根系指标呈正相关但不显著。MDA 含量与 SOD 活性和 AsA 含量呈显著或极显著负相关, 电解质渗漏率与 POD 及 APX 活性呈显著正相关, H_2O_2 含量与 SOD、POD 及 CAT 活性呈显著或极显著正相关。



*表示显著相关 ($P < 0.05$); **, ***表示极显著相关 ($P < 0.01$ 、 $P < 0.001$)。

* indicates significant correlation ($P < 0.05$); **, *** indicates extremely significant correlation ($P < 0.01$, $P < 0.001$).

图 9 湘两优 900 所测指标间的相关性分析

Fig. 9 Correlation analysis between the measured indicators of Xiangliangyou 900

由此可见, 2 个水稻品种在形态和根系参数方面均与电解质渗漏率及 MDA 含量呈显著或极显著负相关, 表明 NaCl 胁迫加深水稻叶片膜脂过氧化程度, 抑制植株正常生长。但对于气体交换参数来说, 黄华占的 P_n 、 G_s 、 C_i 和 T_r 均与形态和根系指标呈显著或极显著正相关。表明光合作用促进地上部叶片的生长, 进而促进地下部根系的生长。湘两优 900 则只有 P_n 和 G_s 与部分形态和根系指标呈显著或极显著正相关。

3 讨论

3.1 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻植株形态建成的影响

相关研究曾指出盐胁迫抑制水稻幼苗的正常

生长, 具体表现为叶片面积减小、株高降低和生物量积累减少^[23]。根是最先遭受盐胁迫的器官。LI 等^[24]指出根系具有灵活性和可塑性, 能够及时调整形态以减少对有毒离子的吸收。本研究中, NaCl 胁迫显著降低黄华占和湘两优 900 的株高和生物量, 且对 2 种水稻根系指标均达到显著抑制作用。这可能是由于盐胁迫产生渗透胁迫, 干扰植物正常代谢过程, 导致细胞吸水受阻, 叶片相对含水量降低, 生长延缓, 生物量积累减少^[25]。叶面喷施 hemin 有效缓解盐胁迫对水稻生长的抑制作用, 株高、茎基宽、生物量等指标均有不同程度的提高; 同时, 能够使叶片维持较高水平的含水量。这与 HUANG 等^[26]研究 hemin 可阻止小麦幼苗在盐胁迫下干重的减少和水分的流失等结

果一致。此外, hemin 明显改善 NaCl 胁迫对水稻根系生长的不利影响。根据前人研究可知, hemin 作为血红素加氧酶-1 (HO-1) 的底物和促进剂, 能够提高该酶活性。HO-1 可作为一氧化氮 (NO) 下游信号分子来激活细胞循环基因, 参与到番茄侧根的形成过程中^[27]。另外, hemin 在植物体内被降解, 产生一氧化碳 (CO)。CO 可提高小麦^[28]和油菜^[29]的耐盐性, 解除对根系细胞生长的抑制作用。推测本研究中 hemin 缓解盐胁迫对水稻幼苗的伤害可能有 2 种方式, 一种是通过自身催化 HO-1 表达, 另一种是分解产生 CO, 其内在机理有待于进一步研究。

3.2 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻 SPAD 值和气体交换参数的影响

盐胁迫下, 植物叶绿素含量下降, 光合作用受阻^[30-31]。本研究发现, NaCl 胁迫 3~12 d, 2 个水稻品种的 SPAD 值显著减小, 主要是盐胁迫提高植物体内叶绿素酶活性, 加速叶绿素降解并阻碍其生物合成。NaCl 胁迫 3、6、9 d, 黄华占叶片的 C_i 和 G_s 同时下降; NaCl 胁迫 6、9 d, 湘两优 900 的 C_i 和 G_s 均下降。说明盐胁迫下黄华占和湘两优 900 光合速率的降低主要是由气孔限制。外源使用 hemin 提高 SPAD 值, 这可能是 hemin 调节叶绿素生物合成相关酶的活性和促进血红素加氧酶 1 对光敏色素发色团的保护作用^[32-33]。黄华占和湘两优 900 经 hemin 处理后 P_n 、 C_i 、 G_s 和 T_r 均显著提高, 表明 hemin 有效缓解 NaCl 胁迫对水稻气孔限制的原因可能是维持较高水平的 G_s 和 T_r 。 G_s 的增加有利于 CO_2 进入植物体内进行气体交换, 促进碳同化; T_r 的提高增强植物吸水及运输的能力, 有利于光合作用的进行, 这与前人的研究结果相一致^[34-35]。此外, 张春平等^[36]研究发现, 血红素处理提高 NaCl 胁迫下黄连幼苗的 G_s 并降低 C_i , 但在本研究中 hemin 提高水稻幼苗的 C_i 和 G_s , 推测可能跟作物种类、胁迫程度和时间有关, 相关具体原因仍需进一步研究。

相关性分析显示, 2 个水稻品种的 SPAD 值与气体交换参数呈显著或极显著正相关, 表明 SPAD 值的提高, 有利于水稻叶片进行光合作用。这些结果说明 hemin 可能通过保护叶片的光合活性及增加 SPAD 值, 保证水稻在 NaCl 胁迫下具有较高的光合作用。但关于 hemin 是如何调控 NaCl 胁迫下水稻幼苗叶绿素含量和光合作用的具体原因仍需进一步研究。

3.3 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻叶片膜损伤和抗氧化系统的影响

植物在正常生长状态下, 体内活性氧的产生和清除处于动态平衡。NaCl 胁迫下, 植物产生过量的活性氧, 引起 MDA 等膜脂过氧化物的积累, 破坏细胞膜的完整性, 最终导致生理代谢紊乱, 抑制植物生长^[37]。本研究中, 与 CK 相比, 随着 NaCl 胁迫时间的延长, 2 个水稻品种 S 处理的电解质渗漏率、MDA 和 H_2O_2 含量呈上升趋势且 $O_2^{\cdot-}$ 染色蓝色斑点数量增加。同时, S 处理的 SOD、POD、CAT 和 APX 活性呈先升后降的趋势。黄华占 S 处理的 AsA 含量均显著低于 CK, 而湘两优 900 S 处理的 AsA 含量在 3 d 时显著高于 CK, 6、9、12 d 时显著低于 CK。这表明短时期盐胁迫下, 水稻通过抗氧化防御系统去除活性氧, 缓解水稻盐害损伤; 长期盐胁迫使水稻积累更多活性氧物质, 抗氧化系统遭到破坏, 无法缓解胁迫带来的氧化损伤, 这些与 VAIDYANATHAN 等^[38]和庞春花等^[39]的研究相似。叶面喷施 hemin 后, 黄华占和湘两优 900 SH 处理的抗氧化酶 (SOD、POD、CAT 和 APX) 活性和 AsA 含量均较 S 处理显著增加, 而电解质渗漏率、MDA 和 H_2O_2 含量保持较低水平, $O_2^{\cdot-}$ 染色斑点减少。前人研究报道 hemin 减少相对电导率和 MDA 含量, 提高相关抗氧化酶活性, 且上调 *NtGSH1* 基因的表达, 调控 GSH 的合成, 保护碱胁迫下烟草细胞膜结构的完整性^[40]。CUI 等^[41]发现 hemin 降低硫代巴比妥酸 (TBARS) 含量, 调节 APX、SOD、POD 活性及 AsA 和 GSH 含量, 缓解由 Cd 导致紫花苜蓿的氧化损伤。上述结果均说明 hemin 减少活性氧积累、激活抗氧化酶活性和增加非酶抗氧化剂含量, 有效提高植物的抗逆性, 但有关 hemin 如何调控其他抗氧化酶活性和 GSH 等抗氧化剂含量还有待进一步探索。

相关性分析表明, 黄华占 SOD 活性与 H_2O_2 含量呈极显著负相关, POD 活性与 H_2O_2 和 MDA 含量均呈极显著负相关。AsA 含量与电解质渗漏率、MDA 和 H_2O_2 含量均呈显著或极显著负相关。推测 NaCl 胁迫下, 黄华占体内的 AsA 含量、SOD 和 POD 活性不能清除过量的活性氧, 需要靠 hemin 的调控作用缓解氧化胁迫。湘两优 900 的 POD 和 APX 活性均与电解质渗漏率呈显著或极显著正相关, SOD、POD 及 CAT 活性与 H_2O_2 含量均呈显著或极显著正相关, 而 AsA 含量与电解

质渗漏率及 MDA 含量呈显著或极显著负相关。可能是湘两优 900 在受到 NaCl 胁迫时,通过增强自身抗氧化酶活性,减轻膜脂过氧化程度,从而维持细胞膜的完整性。

3.4 外源 hemin 对 NaCl 胁迫下水稻可溶性蛋白的影响

植物通过增加渗透物质含量以抵御盐胁迫的伤害^[42],可溶性蛋白作为一种重要的渗透调节物质,具有较强的亲水性,可增强植物细胞保水能力^[43]。本研究中,NaCl 胁迫下,水稻叶片中可溶性蛋白含量显著增加,可能是盐胁迫导致幼苗体内 Na⁺和 Cl⁻激增,细胞内外离子浓度失衡,引起渗透胁迫,而幼苗通过提高渗透物质(可溶性蛋白)的含量来降低盐胁迫带来的渗透损伤。随着盐胁迫时间的增加,蛋白含量下降。根据前人研究,推测植物受到胁迫后蛋白质合成受阻或蛋白质结构被破坏而降解^[44],产生大量的游离氨基酸。喷施外源 hemin 有效提高 2 个水稻品种的可溶性蛋白含量,有助于细胞吸收外部环境中的水分,从而减轻 NaCl 胁迫带来的伤害。刘紫薇等^[45]研究指出 hemin 可提高有机渗透调节物质(可溶性糖、可溶性蛋白和脯氨酸等)含量及无机离子 K⁺、Ca²⁺和 Mg²⁺的吸收,降低体内 Na⁺的积累,从而诱导烟草植株抵御碱胁迫。然而,本研究只表明施用外源 hemin 可提高可溶性蛋白含量,对于可溶性糖、脯氨酸、K⁺和 Ca²⁺等其他渗透调节物质的调控作用目前正在研究中,相关机制将在后续发表的论文中深入研究和分析。

4 结论

盐胁迫显著抑制水稻幼苗生长,造成 ROS 代谢紊乱,增加膜脂过氧化程度。叶面喷施 hemin 通过增强净光合速率,增加生物量的积累,激活抗氧化酶(SOD、POD、CAT、APX)活性和促进渗透物质的积累缓解由盐胁迫造成的损伤。本研究结果为外源 hemin 提高水稻幼苗抗逆性及盐碱地种植水稻提供技术指导和理论依据。

参考文献

- [1] REN Y F, WANG W, HE J Y, ZHANG L Y, WEI Y J, YANG M. Nitric oxide alleviates salt stress in seed germination and early seedling growth of pakchoi (*Brassica chinensis* L.) by enhancing physiological and biochemical parameters[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 187: 1-10.
- [2] THORNE S J, STIRNBERG P M, HARTLEY S E, MAATHUIS F J M. The ability of silicon fertilisation to alleviate salinity stress in rice is critically dependent on cultivar[J]. *Rice*, 2022, 15(1): 1-10.
- [3] JIA X M, WANG H, SVETLA S, ZHU Y F, HU Y, CHENG L, ZHAO T, WANG Y X. Comparative physiological responses and adaptive strategies of apple *Malus halliana* to salt, alkali and saline-alkali stress[J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 245: 154-162.
- [4] CHAPMAN J M, MUHLEMANN J K, GAYORNBA S R, MUDAY G K. RBOH-dependent ROS synthesis and ROS scavenging by plant specialized metabolites to modulate plant development and stress responses[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2019, 32(3): 370-396.
- [5] 巫明明, 曾维, 翟荣荣, 叶靖, 朱国富, 俞法明, 张小明, 叶胜海. 水稻耐盐分子机制与育种研究进展[J]. *中国水稻科学*, 2022, 36(6): 551-561.
WU M M, ZENG W, ZHAI R R, YE J, ZHU G F, YU F M, ZHANG X M, YE S H. Research progress on molecular mechanism and breeding status of salt tolerance in rice[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2022, 36(6): 551-561. (in Chinese)
- [6] 李瑶, 郑殿峰, 冯乃杰, 冯胜杰, 余明龙, 黄露, 张容郡, 孟枫岩. 调环酸钙对盐胁迫下水稻幼苗生长及抗性生理的影响[J]. *植物生理学报*, 2021, 57(10): 1897-1906.
LI Y, ZHENG D F, FENG N J, FENG S J, YU M L, HUANG L, ZHANG R J, MENG F Y. Effects of prohexadione-calcium on growth and resistance physiology of rice seedlings under salt stress[J]. *Plant Physiology Journal*, 2021, 57(10): 1897-1906. (in Chinese)
- [7] 朱晓军, 杨劲松, 梁永超, 娄运生, 杨晓英. 盐胁迫下钙对水稻幼苗光合作用及相关生理特性的影响[J]. *中国农业科学*, 2004, 37(10): 1497-1503.
ZHU X J, YANG J S, LIANG Y C, LOU Y S, YANG X Y. Effects of exogenous calcium on photosynthesis and its related physiological characteristics of rice seedlings under salt stress[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2004, 37(10): 1497-1503. (in Chinese)
- [8] 黄本开, 刘开力, 徐晟, 宣伟, 樊颖瑞, 凌腾芳, 刘志兵, 孙永刚, 沈文飏. 一氧化氮供体对盐胁迫下水稻幼苗叶片脂质过氧化的调节[J]. *南京农业大学学报*, 2005(3): 22-25.
HUANG B K, LIU K L, XU S, XUAN W, FAN Y R, LING T F, LIU Z B, SUN Y G, SHEN W B. Regulation of nitric oxide donor on lipid peroxidation in rice seedling leaves under salt stress[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2005(3): 22-25. (in Chinese)

- [9] 向警, 黄倩, 鞠春燕, 黄伦霄, 赵正武. 外源褪黑素对盐胁迫下水稻种子萌发与幼苗生长的影响[J]. 植物生理学报, 2021, 57(2): 393-401.
XIANG J, HUANG Q, JU C Y, HUANG L X, ZHAO Z W. Effect of exogenous melatonin on seed germination and seedling growth of rice under salt stress[J]. Plant Physiology Journal, 2021, 57(2): 393-401. (in Chinese)
- [10] 杨文嘉. 甘蓝的耐镉(Cd)性机理及氯化血红素(hemin)的缓解机制[D]. 南京: 南京农业大学, 2018.
YANG W J. The cadmium tolerance mechanism and alleviation mechanism of hemin in *Brassica oleracea* L.[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2018. (in Chinese)
- [11] LI J L, ZHU D, WANG R, SHEN W B, GOU Y Y, REN Y, SHEN W, HUANG L Q. Beta-cyclodextrin-hemin complex-induced lateral root formation in tomato: involvement of nitric oxide and heme oxygenase 1[J]. Plant Cell Reports, 2015, 34(3): 381-393.
- [12] CUI W, ZHU D, SHEN W, MEI Y D, HU D K, SHI Y J, REN Y, SHEN W, GU Q, XU D K, HUANG L Q. Hydrogen peroxide is involved in beta-cyclodextrin-hemin complex-induced lateral root formation in tomato seedlings[J]. Frontiers Plant Sciences, 2017, 8: 1445.
- [13] JIN Q J, FENG J F, SUN Y, CUI W T, HAN B, XU S, SHEN W B. Characterization of a heme oxygenase-1 from tobacco that is involved in some abiotic stress responses[J]. International Journal of Plant Sciences, 2012, 173(2): 113-123.
- [14] HAN Y, XUAN W, YU T, FAN W B, LOU T L, GAO Y, CHEN X Y, XIAO X, SHEN W B. Exogenous hematin alleviates mercury-induced oxidative damage in the roots of *Medicago sativa*[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2007, 49(12): 1703-1713.
- [15] XIE Y J, LING T F, HAN Y, LIU K L, ZHEN Q S, HUANG L Q, YUAN X X, HE Z Y, HU B, FANG L, SHEN Z, YANG Q, SHEN W B. Carbon monoxide enhances salt tolerance by nitric oxide-mediated maintenance of ion homeostasis and up-regulation of antioxidant defence in wheat seedling roots[J]. Plant Cell and Environment, 2008, 31(12): 1864-1881.
- [16] 陈昀, 郑焕明, 张竞, 沈文飏. 以 hemin 为基础的物质联用缓解盐胁迫对大豆种子萌发的抑制[J]. 大豆科学, 2013, 32(5): 640-646.
CHEN Y, ZHENG M Y, ZHANG J, SHEN W B. Hemin-based combinations of exogenous substances alleviate the inhibition of soybean seed germination under salt stress[J]. Soybean Science, 2013, 32(5): 640-646. (in Chinese)
- [17] 沈文飏, 黄丽琴, 沈晋良, 凌腾芳, 宣伟, 徐晟, 叶茂炳, 邵苏宁, 黄本开, 顾克余, 刘开力, 刘雅辉, 曹泽咸, 萨支圣, 韩毅, 谢彦杰, 刘辉. 一种含有氯化血红素的植物生长调节剂: CN100428884C[P]. 2008-10-29.
SHEN W B, HUANG L Q, SHEN J L, LING T F, XUAN W, XU S, YE M B, SHAO S N, HUANG B K, GU K Y, LIU K L, LIU Y H, CAO Z Y, SA Z S, HAN Y, XIE Y J, LIU H. A plant growth regulator containing hemin: CN100428884C[P]. 2008-10-29. (in Chinese)
- [18] AFSAR S, BIBI G, AHAMAND R, BILAL M, NAQVI T A, BAIG A, SHAH M M, HEANG B Q, HUSSAIN J. Evaluation of salt tolerance in *Eruca sativa* accessions based on morpho-physiological traits[J]. PeerJ, 2020, 8: 1-26.
- [19] RASHEED R, ASHRAF M A, AHMAND S J N, PARVEEN N, HUSSAIN I, BASHIR P. Taurine regulates ROS metabolism, osmotic adjustment, and nutrient uptake to lessen the effects of alkaline stress on *Trifolium alexandrinum* L. plants[J]. South African Journal of Botany, 2022, 148: 482-498.
- [20] TAHJIB-UL-ARIF M, AFRIN S, POLASH M A S, AKTER T, RAY S R, HOSSAIN M T, HOSSAIN M A. Role of exogenous signaling molecules in alleviating salt-induced oxidative stress in rice (*Oryza sativa* L.): a comparative study[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2019, 41(5): 41-69.
- [21] 董亚茹, 张艳波, 赵东晓, 耿兵, 姜齐年, 李云芝, 王照红, 郭光. 外源 24-表油菜素内酯对 NaCl 胁迫下桑树幼苗的缓解效应[J]. 核农学报, 2021, 35(6): 1466-1475.
DONG Y R, ZHANG Y B, ZHAO D X, GENG B, LOU Q N, LI Y Z, WANG Z H, GUO G. Alleviation effect of exogenous 24-epigenolide on mulberry seedlings under NaCl stress[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2021, 35(6): 1466-1475. (in Chinese)
- [22] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2002.
CHEN J X, WANG X F. Experimental director of plant physiology[M]. Guangzhou: South China University of Technology Press, 2002. (in Chinese)
- [23] KENAWY E R, RASHAD M, HOSNY A, SHENDY S, GAD D, SAAD-ALLAH K M. Enhancement of growth and physiological traits under drought stress in faba bean (*Vicia faba* L.) using nanocomposite[J]. Journal of Plant Interactions, 2022(1): 404-418.
- [24] LI P C, YANG X Y, WANG H M, PAN T, YANG J Y, WANG Y Y, XU Y, YANG Z F, XU C W. Metabolic responses to combined water deficit and salt stress in maize primary roots[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2021, 20(1): 109-119.
- [25] PARVIN K, HASANUZZAMAN M, BHUYAN M H M B, NAHAR K, MOHHSIN S M, FUJITA M. Comparative physiological and biochemical changes in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) under salt stress and recovery: role of anti-

- oxidant defense and glyoxalase systems[J]. *Antioxidants*, 2019, 8(9): 350-366.
- [26] HUANG B K, XU S, XUAN W, LI M, CAO Z Y, LIU K L, LING T F, SHEN W B. Carbon monoxide alleviates salt-induced oxidative damage in wheat seedling leaves[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2006, 48(3): 249-254.
- [27] 张竞. 氯化血红素- β -环糊精包合物和褪黑素通过重建离子和氧化还原稳态来提高烟草和玉米幼苗耐盐性的分子机理[D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
- ZHANG J. Molecular mechanisms of the β -cyclodextrin-hemin and melatonin in enhancing tolerance against salinity in tobacco and maize seedlings by reestablishing ion and redox homeostases[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2016. (in Chinese)
- [28] LING T F, ZHANG B, CUI W T, WU M Z, LIN J S, ZHOU W T, HUANG J J, SHEN W B. Carbon monoxide mitigates salt-induced inhibition of root growth and suppresses programmed cell death in wheat primary roots by inhibiting superoxide anion overproduction[J]. *Plant Science*, 2009, 177(4): 331-340.
- [29] CAO Z, GENG B, XU S, XUAN W, NIE L, SHEN W B. BnHO1, a haem oxygenase-1 gene from *Brassica napus*, is required for salinity and osmotic stress-induced lateral root formation[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(13): 4675-4689.
- [30] 余明龙, 黄露, 郑殿峰, 冯乃杰, 牟保民, 刘美玲. 外源调环酸钙对盐碱胁迫下大豆幼苗生长及生理特性的影响[J]. *生态学杂志*, 2022, 41(4): 683-692.
- YU M L, HUANG L, ZHENG D F, FENG N J, MU B M, LIU M L. Effects of exogenous prohexadione-calcium on growth and physiological characteristics of soybean seedlings under saline-alkali stress[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2022, 41(4): 683-692. (in Chinese)
- [31] YIN F M, ZHANG S Y, CAO B L, XU K. Low pH alleviated salinity stress of ginger seedlings by enhancing photosynthesis, fluorescence, and mineral element contents[J]. *PeerJ*, 2021, 9: 1-19.
- [32] ZHU L X, YANG Z H, ZENG X H, GAO J, LIU J, YI B, MA C Z, SHEN J X, TU J X, FU T D. Heme oxygenase 1 defects lead to reduced chlorophyll in *Brassica napus*[J]. *Plant Molecular Biology*, 2017, 93(6): 579-592.
- [33] MURAMOTO T, TSURUI N, TERRY M J, YOKOTA A, KOHCHI T. Expression and biochemical properties of a ferredoxin-dependent heme oxygenase required for phytochrome chromophore synthesis[J]. *Plant Physiology*, 2002, 130(4): 1958-1966.
- [34] 孟瑶. 氯化血红素(Hemin)增强玉米耐镉胁迫的生理生态机制及其大田验证研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2020.
- MENG Y. Mitigation effect and physiological and ecological regulation mechanism of exogenous hemin on maize seedling under cadmium stress[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2020. (in Chinese)
- [35] SUN G, MENG Y, WANG Y, WANG Y, ZHAO M, WEI S, GU W R. Exogenous hemin optimized maize leaf photosynthesis, root development, grain filling, and resource utilization on alleviating cadmium stress under field condition[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2021, 22(1): 631-646.
- [36] 张春平, 周立鑫, 周慧, 何平, 胡世俊, 李岩, 么焕开, 段静雨. 外源一氧化碳供体高铁血红蛋白对盐胁迫下黄连幼苗光合参数及叶绿素荧光特性的影响[J]. *中草药*, 2015, 46(2): 262-272.
- ZHANG C P, ZHOU L X, ZHOU H, HE P, HU S J, LI Y, YAO H K, DUAN J Y. Effect of exogenous carbon monoxide donor hematin on photosynthesis parameters and chlorophyll fluorescence characteristics of *Coptis chinensis* seedlings under NaCl stress[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2015, 46(2): 262-272. (in Chinese)
- [37] LIU X L, ZHANG H, JIN Y Y, WANG M M, YANG H Y, MA H Y, JIANG C J, LIANG Z W. Abscissic acid primes rice seedlings for enhanced tolerance to alkaline stress by upregulating antioxidant defense and stress tolerance-related genes[J]. *Plant and Soil*, 2019, 438(1/2): 39-55.
- [38] VAIDYANATHAN H, SIVAKUMAR P, CHAKRABARTY R, THOMAS G. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.)-differential response in salt-tolerant and sensitive varieties[J]. *Plant Science*, 2003, 165(6): 1411-1418.
- [39] 庞春花, 张媛, 李亚妮. 硝酸镧浸种对藜麦种子萌发及盐胁迫下幼苗生长的影响[J]. *中国农业科学*, 2019, 52(24): 4484-4492.
- PANG C H, ZHANG Y, LI Y N. Effects of soaking seeds with lanthanum nitrate on seed germination and seedling growth of quinoa under salt stress[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(24): 4484-4492. (in Chinese)
- [40] 刘紫薇. 氯化血红素诱导烟草抵御盐胁迫和碱胁迫的初步研究[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2018.
- LIU Z W. A preliminary study on hemin-induced resistance to salt stress and alkaline stress in tobacco[D]. Hefei: University of Science and Technology of China. (in Chinese)
- [41] CUI W T, LI L, GAO Z Z, WU H H, XIE Y J, SHEN W B. Haem oxygenase-1 is involved in salicylic acid-induced alleviation of oxidative stress due to cadmium stress in *Medicago sativa*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(15): 5521-5534.

- [42] 王洋, 张瑞, 刘永昊, 李荣凯, 葛建飞, 邓仕文, 张徐彬, 陈英龙, 韦还和, 戴其根. 水稻对盐胁迫的响应及耐盐机理研究进展[J]. 中国水稻科学, 2022, 36(2): 105-117.
WANG Y, ZHANG R, LIU Y H, LI R K, GE J F, DENG S W, ZHANG X B, CHEN Y L, WEI H H, DAI Q G. Rice response to salt stress and research progress in salt tolerance mechanism[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2022, 36(2): 105-117. (in Chinese)
- [43] BAI Y D, XIAO S, ZHANG Z C, ZHANG Y J, SUN H C, ZHANG K, WANG X D, BAI Z Y, LIU L T. Melatonin improves the germination rate of cotton seeds under drought stress by opening pores in the seed coat[J]. PeerJ, 2020, 8: 1-29.
- [44] ALISOFI S, EINALI A, SANGTARASH M H. Jasmonic acid-induced metabolic responses in bitter melon (*Momordica charantia*) seedlings under salt stress[J]. Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 2020, 95(2): 247-259.
- [45] 刘紫薇, 杨庆根, 张朝, 高琴, 肖先仪, 尤本武, 陈学平. 氯化血红素诱导烟草抵御碱胁迫的初步研究[J]. 中国烟草学报, 2018, 24(1): 28-37.
LIU Z W, YANG Q G, ZHANG C, GAO Q, XIAO X Y, YOU B W, CHEN X P. Preliminary study on hemin-induced resistance to alkali stress of tobacco[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2018, 24(1): 28-37. (in Chinese)