

盐胁迫对 2 种春小麦新品种的萌发及相关酶活性的影响

陆昱成 (西北师范大学生命科学院, 甘肃兰州 730070)

摘要 [目的]探究小麦种子萌发期间对盐胁迫的耐受性以及响应方式。[方法]采用 5 种浓度的 NaCl 溶液处理萌发期的 2 种春小麦种子, 研究盐胁迫对小麦种子的萌发以及萌发期间过氧化物酶类活性的影响。[结果]盐胁迫对小麦种子的萌发有抑制作用, 低盐浓度对种子的萌发率影响不明显, 但对发芽势影响显著; 小麦种子萌发期间的过氧化物酶类活性明显受到盐胁迫的抑制。各指标显示, 相同浓度盐胁迫条件下, 陇春 30 号小麦种子的萌发效果略好于陇春 27 号。[结论]为筛选小麦的耐盐品种以及种子的选育工作提供了依据。

关键词 小麦种子; 萌发; 盐胁迫; 抗氧化酶; 影响

中图分类号 S501 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)15-0018-03

Effects of Salt Stress on Seed Germination and Activity of Antioxidant Enzyme in Wheat

LU Yu-cheng (College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou, Gansu 730070)

Abstract [Objective] The aim was to explore tolerance and response of wheat seed to salt stress during seed germination. [Method] We used five different concentrations of NaCl solution to treat the germination of the seeds of two spring wheat varieties. The effects of salt stress on the germination of wheat seeds and peroxidase activity during germination were studied. [Result] The salt stress inhibited the germination of wheat seeds. Low salt concentration had no significant effect on seed germination rate, but had significant effect on germination potential. The peroxidase activity in wheat seed germination was inhibited by salt stress. Various indicators show that in the same salt concentration, Longchun 30 wheat seed germination is better than Longchun 27. [Conclusion] The results provide theoretical basis for screening salt-tolerant varieties and seed breeding.

Key words Wheat seed; Germination; Salt stress; Peroxidase; Effect

盐分作为一个常见的环境因子, 对植物种子的萌发和生长有重要影响, 表现为渗透胁迫、离子伤害和营养失衡, 可降低种子的萌发率以及削弱种子的活力。大多数情况下, 盐的浓度越高, 植物和盐分的接触时间越长, 则植物的萌发和生长所受到的伤害就越严重。萌发阶段是植物生长发育的起始阶段, 这一时期种子对环境中的盐分浓度非常敏感, 种子对盐分的耐受性是进一步进行植株耐盐性鉴定以及开展耐盐品种选育的基石^[1]。耐盐植物为了尽量减少逆境对自身的伤害, 逐渐进化出一套对抗不良环境的体系。这套体系包括抗氧化酶系统和非酶系统的抗氧化剂类。植物体内的抗氧化酶类主要有超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)3种。它们能让细胞中活性氧的含量迅速降低, 进而使得膜脂过氧化程度得到缓解, 保护细胞膜的完整性。

在盐胁迫环境里, 小麦叶子中 SOD、CAT、APX 的活性差异明显, 耐盐性品种的小麦叶片中这类酶的活性要大于其他品种^[2]。植物体中的过氧化物酶(POD)作用是缓和由盐胁迫导致的次生胁迫——氧化性损伤^[3]。SOD 是一种金属酶, 大多数需要氧气来维持生活的细胞中都存在 SOD。SOD 与 CAT、POD 以及胡萝卜素等物质协同作用, 是防御过氧化物还有自由基对膜系统伤害的主要方式, 有研究显示: SOD 活性可直接决定植物的耐盐性; SOD 的活性在耐盐性高的植物品种中表现突出, 当胁迫出现时, 酶自身的变化速度快而且活性周期长; 反之, 在不耐盐植物体中 SOD 活性的变化不那么敏感^[4]。抗氧化酶的活性在不同的小麦品种(以耐盐性区分)中有着不同的活性, 这类酶的活性在耐盐性植物体内较高^[5]。笔者研究了不同浓度 NaCl 溶液对陇春 27 号和陇春 30

号小麦种子萌发及萌发期间过氧化物酶活性的影响, 旨在探究小麦种子萌发期间对盐胁迫的耐受性以及响应方式, 为这 2 种小麦种子的种植、小麦耐盐品种的筛选以及种子的选育工作提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料 供试的小麦种子陇春 27 号和陇春 30 号系从甘肃省农业科学院获得。这 2 个品种适合于在甘肃省附近种植。陇春 27 号特点为抗旱、抗病、生长整齐; 陇春 30 号的特点是抗倒性好、产量高。

1.2 方法

1.2.1 小麦种子前处理。小麦种子在试验前须经过消毒和浸泡, 消毒的方法: 使用 0.1% HgCl₂, 把种子浸泡在该溶液中 10 min 即可, 期间均匀搅拌种子使消毒比较彻底。用流水冲洗种子 12 h, 清除种子表面残留的 HgCl₂, 然后将 50 粒种子平铺于垫了 2 层滤纸的培养皿中, 将培养皿分为 6 组, 每组 3 个平行, 在培养皿中加入不同浓度的 NaCl 溶液作为处理液胁迫萌发中的种子, 其中 1 组不加处理液作为对照组。NaCl 的浓度梯度为 25、50、100、150、200 mmol/L, 把处理好的种子放于托盘中, 用黑色布料遮住外界光线, 放入培养箱中, 在 25 ℃、黑暗条件下萌发 48 h, 以种子作为材料测定指标。

1.2.2 发芽率测定。发芽率: 种子萌发 7 d, 在最后一天计算已经萌发了的种子个数占所有种子个数的百分比。它是衡量种子活力的重要指标, 可以显示种子胚的活性。

1.2.3 发芽势测定。发芽势: 计算种子萌发前 3 d 所有正常萌发的种子数占全部种子数的百分比。这个指标的作用主要用来反映种子的发芽速度, 如果 2 批种子发芽率相同, 则发芽势较高的这批种子有更强的生命力, 因为其发芽速度更快。

1.2.4 CAT 活性测定。取新鲜小麦种子 0.5 g 用 50.00 mmol/L PBS 溶液 [pH 7.8, 内含 0.10 mmol/L 乙二胺四乙酸

作者简介 陆昱成(1987—), 男, 甘肃兰州人, 助教, 硕士, 从事植物逆境生理研究。

收稿日期 2017-04-14

(EDTA)、1% 聚乙烯吡咯烷酮(PVP)],冰浴研磨,在 4 °C 条件下 13 286 r/min 离心 30 min,得上清液即为酶粗提取液,CAT 活性的测定使用 Aebi 的方法^[6],以 1 min 内 OD₂₄₀ 值变化 0.1 为 1 个酶活性单位。

1.2.5 SOD 活性的测定。酶液的提取方法与 CAT 酶液的提取方法相同。SOD 活性测定采用李合生^[7]的方法,1 个单位的 SOD 酶活性按照抑制 NBT 光还原的 50% 的酶量测定。

1.2.6 POD 活性测定。酶液的提取方法与 CAT 酶液的提取方法相同。POD 活性的测定按照 Rao 等^[8]的愈创木酚方法,以 1 min 内 OD₄₇₀ 值变化 1 为 1 个酶活力单位。

1.2.7 APX 活性测定。使用 Nakano 等^[9]的方法,称取 0.5 g 小麦种子。提取液:50.00 mmol/L PBS 溶液 [pH 7.0, 内含 1.00 mmol/L EDTA, 1.00 mmol/L 抗坏血酸(ASA)],冰浴研磨,4 °C 条件下 13 286 r/min 离心 30 min。反应液:3 mL 50.00 mmol/L PBS 溶液 (pH 7.0, 内含 0.50 mmol/L ASA、0.10 mmol/L H₂O₂)。取上清加入反应液中,检测 2 min 内溶液 OD₂₉₀ 的变化,以 1 min 内 OD₂₉₀ 变化 0.1 为 1 个酶活单位。

1.2.8 GR 活性测定。使用金梦阳等^[10]的方法,称取 0.5 g 小麦种子。提取液:Tris - HCl 溶液 (pH 7.5, 内含 0.1 mmol/L EDTA 和 0.1% PVP),冰浴研磨,4 °C 条件下 12 369 r/min 离

心 30 min。反应液:Tris - HCl [pH 7.5, 内含 0.15 mmol/L NADPH、0.50 mmol/L 氧化型谷胱甘肽(GSSG)、3.00 mmol/L MgCl₂]。取上清液加入其中,做 3 min 扫描,30 s 为时间间隔,测定 OD₃₄₀ 值的变化。以 1 min 内 OD₃₄₀ 值变化 0.1 为 1 个 GR 酶活单位。

1.3 数据处理 用 Excel 2010 制表和作图,用 SPSS 19.0 对数据进行分析比较。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对 2 种小麦种子萌发的影响 由表 1 可知,2 种小麦种子的发芽率和发芽势都随着 NaCl 浓度的升高而逐渐降低,在 NaCl 浓度达 50 mmol/L 时,陇春 27 号和陇春 30 号小麦的发芽率分别较对照组下降了 12.59% 和 8.97%,达到了显著水平,2 种小麦的发芽势随 NaCl 浓度升高的变化情况和发芽率稍有不同,总体趋势上也是随着 NaCl 浓度的升高而逐渐降低,但是发芽势在 NaCl 浓度达 25 mmol/L 时就与对照组出现了显著差异,分别比对照组降低了 9.97% 和 9.22%。这说明,盐胁迫的环境更容易对种子的发芽速度产生影响;盐胁迫环境明显抑制这 2 种小麦种子的萌发。另外,在相同浓度的 NaCl 处理下,陇春 30 号发芽率和发芽势都略高于陇春 27 号。

表 1 盐胁迫对 2 种小麦种子萌发的影响

Table 1 Effect of salt stress on germination in two wheat seeds

NaCl 浓度 NaCl concentration // mmol/L	发芽率 Germination rate		发芽势 Germination force	
	陇春 27 号 Longchun 27	陇春 30 号 Longchun 30	陇春 27 号 Longchun 27	陇春 30 号 Longchun 30
0	95.33 ± 1.15 a	96.67 ± 1.15 a	93.33 ± 1.15 a	94.00 ± 2.00 a
25	92.00 ± 2.00 a	95.33 ± 2.31 a	84.00 ± 2.00 b	85.33 ± 1.15 b
50	83.33 ± 2.31 b	88.00 ± 2.00 b	76.67 ± 2.31 c	78.00 ± 3.46 c
100	64.67 ± 2.31 c	67.33 ± 2.31 c	52.00 ± 5.29 d	58.00 ± 3.46 d
150	42.67 ± 3.06 d	49.33 ± 3.06 d	36.00 ± 2.00 e	37.33 ± 1.15 e
200	29.33 ± 1.15 e	31.33 ± 1.15 e	18.00 ± 3.46 f	23.33 ± 2.31 f

注:同列不同字母表示处理间在 0.05 水平差异显著

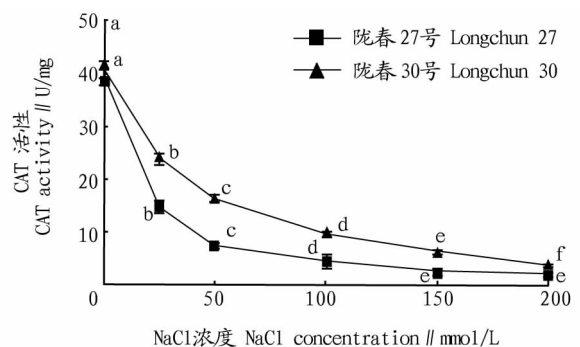
Note: Different small letters at the same column showed significant difference among treatments at 0.05 level

2.2 盐胁迫对小麦种子中抗氧化酶活性的影响

2.2.1 盐胁迫对小麦种子中 CAT 活性的影响。由图 1 可知,在盐胁迫环境下,陇春 27 号和陇春 30 号种子中 CAT 的活性均随着盐浓度的升高有大幅度的下降,在 NaCl 浓度为 25 mmol/L 时,陇春 27 号和陇春 30 号种子中的 CAT 活性比对照组分别降低了 62.34% 和 41.48%,已经达到显著水平。高盐浓度的胁迫环境对 CAT 活性抑制效果非常强,在盐浓度为 200 mmol/L 的条件下,2 种小麦种子中的 CAT 活性分别只有对照组的 5.16% 和 9.27%。

2.2.2 盐胁迫对小麦种子中 POD 活性的影响。由图 2 可知,2 个品种小麦种子 POD 活性均随着 NaCl 浓度的升高而逐渐降低,在 NaCl 浓度为 25 mmol/L 时,陇春 27 号和陇春 30 号种子 POD 活性分别比对照组降低了 16.99% 和 10.20%,达到显著水平。随着盐浓度的继续提高,2 种小麦种子 POD 活性的降低趋势都趋于平缓,在盐浓度为 200 mmol/L 时,陇春 27 号和陇春 30 号种子 POD 活性与对照组相比分别降低了 53.67% 和 41.44%。

2.2.3 盐胁迫对小麦种子中 SOD 活性的影响。由图 3 可



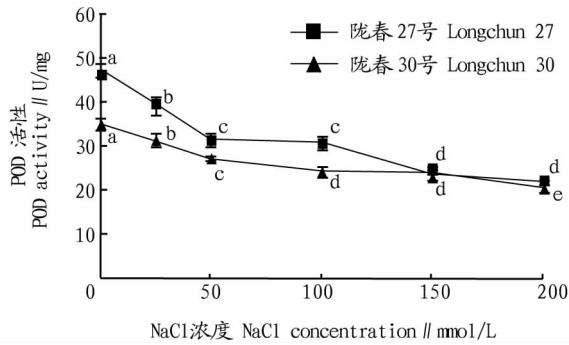
注:图中不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平差异显著

Note: Different small letters showed significant difference among treatments at 0.05 level

图 1 盐胁迫对 2 种小麦种子中 CAT 活性的影响

Fig. 1 Effect of salt stress on the activity of CAT in two wheat seeds

知,2 种小麦种子 SOD 活性随着盐浓度的升高呈下降趋势。陇春 27 号和陇春 30 号种子中 SOD 活性在盐浓度为 25 mmol/L 时,分别比对照组降低了 28.57% 和 13.68%,达到



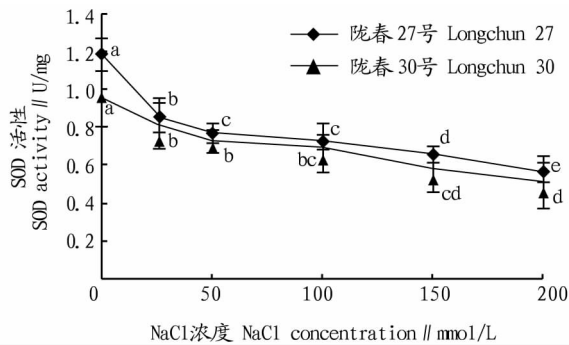
注:图中不同小写字母表示不同处理间在0.05水平差异显著

Note: Different small letters showed significant difference among treatments at 0.05 level

图2 盐胁迫对2种小麦种子中POD活性的影响

Fig.2 Effect of salt stress on the activity of POD in two wheat seeds

显著差异。随着盐浓度的进一步升高,SOD活性的降低趋势比较平缓,在200 mmol/L盐胁迫条件下,2个品种SOD活性分别比对照组降低了52.94%和46.32%。



注:图中不同小写字母表示不同处理间在0.05水平差异显著

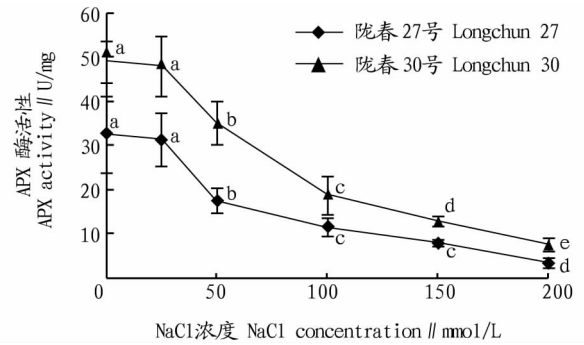
Note: Different small letters showed significant difference among treatments at 0.05 level

图3 盐胁迫对2种小麦种子中SOD活性的影响

Fig.3 Effect of salt stress on the activity of SOD in two wheat seeds

2.2.4 盐胁迫对小麦种子中APX活性的影响。由图4可知,2种小麦种子APX活性在低盐浓度(25 mmol/L)条件下所受影响不大。在盐浓度达50 mmol/L时,陇春27号和陇春30号种子APX活性分别比对照组下降了45.88%和28.01%,达到显著差异。之后,随着盐浓度的继续增大,2种小麦种子APX活性继续降低,下降趋势比较稳定,到盐浓度为200 mmol/L时,陇春27号和陇春30号小麦种子APX活性分别比对照组下降了89.25%和84.12%。

2.2.5 盐胁迫对小麦种子中GR活性的影响。由图5可知,2种小麦种子GR活性随着盐浓度的升高而不断降低,但是在低盐浓度下,这种效应并不明显,盐浓度为25 mmol/L的条件下,2种小麦种子GR活性与对照组比较并无显著差异。但是在盐浓度达50 mmol/L时,陇春27号和陇春30号种子GR活性都出现了大幅度的下降,分别比对照组降低了32.69%和27.57%,达到显著性差异,在高盐浓度胁迫下种子中的GR活性被显著抑制,200 mmol/L的盐胁迫条件下,陇春



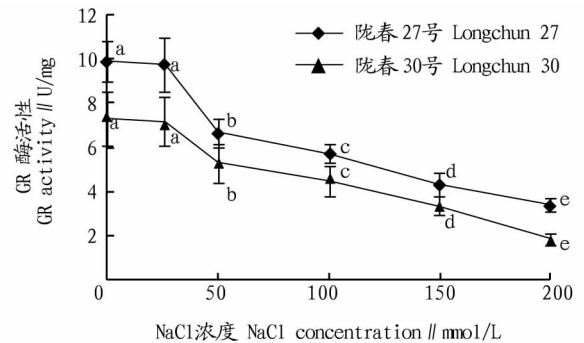
注:图中不同小写字母表示不同处理间在0.05水平差异显著

Note: Different small letters showed significant difference among treatments at 0.05 level

图4 盐胁迫对2种小麦种子中APX活性的影响

Fig.4 Effect of salt stress on the activity of APX in two wheat seeds

27号和陇春30号种子GR活性分别比对照组降低了65.89%和75.17%。



注:图中不同小写字母表示不同处理间在0.05水平差异显著

Note: Different small letters showed significant difference among treatments at 0.05 level

图5 盐胁迫对2种小麦种子中GR活性的影响

Fig.5 Effect of salt stress on the activity of GR in two wheat seeds

3 结论与讨论

种子萌发过程中的环境因子直接影响了它的萌发质量,多数植物在盐胁迫下被抑制萌发,萌发环境中无盐是最有利的,盐生植物在周围环境中含盐时,种子可能会休眠,如遇到高盐浓度的胁迫,种子就会不萌发或延缓萌发,从而使植物尽量免受高盐浓度的迫害,保证正常生长。

陇春27号和陇春30号的萌发率在低盐浓度(<25 mmol/L)下基本不受影响,在盐浓度大于50 mmol/L时,2个品种的萌发率随盐浓度的升高而呈下降趋势,发芽势受盐胁迫的影响比萌发率更加敏感,2个品种小麦种子的发芽势从低浓度(25 mmol/L)开始就受到显著影响。这说明2种小麦种子的发芽速度对盐胁迫环境的响应更加敏感。盐浓度较高的环境下,对种子的发芽率和发芽势的抑制都非常显著。相同浓度的盐胁迫条件下陇春30号的萌发率和发芽势都略高于陇春27号。

2种小麦种子中,抗氧化酶类(CAT、POD、SOD、APX、
(下转第25页)

种子若在自然环境中掉落,菊科大多稳定、较迅速地掉落在母体附近,且瘦果着陆,可开始萌发生长。虽然自身水平传播能力较差,但可利用冠毛及瘦果上小刺依附动物传播,一定程度上扩展生长范围。同一高度下禾本科种子掉落过程时间较长,期间有更多机会横向传播;即使落于地表,也可能是附属毛着陆,行动相对自由。若着陆环境有降雨或有水体,则附属毛湿润后粘连,支撑结构被破坏,颖果可着地萌发生长。若地表较为干燥,禾本科种子在风力较强时更易滚动传播,甚至二次飘行,直至落在适宜湿润地带。

对于本已生长于水分充足地带的禾本科种子,可能第 1 次降落地点即为水面。由于其附属毛的全方位生长,接触空气面的附属毛仍可挺立,起到“船帆”的作用,在风力及水波推动下漂浮停靠在岸边,使种子萌发于湿润且土壤肥沃区域。

该试验仅研究了水平方向风力,而在自然中还有气体湍流^[21]、地形因子、气候、上升气流^[6]等对种子风传的影响,可通过制造风洞进行环境模拟^[22],作为后续试验研究方向之一。

参考文献

- [1] 李儒海,强胜. 杂草种子传播研究进展[J]. 生态学报,2007,27(12): 5361–5370.
- [2] GREENE D F, JOHNSON E A. Seed mass and dispersal capacity in wind-dispersed diaspores[J]. *Oikos*,1993,67(1):69–74.
- [3] 张自生,文慧慧,张仕林,等. 酢浆草种子弹力传播机制初探[J]. 植物学研究,2014,3(5): 200–206.
- [4] WILL H, MAUSSNER S, TACKENBERG O. Experimental studies of diaspore attachment to animal coats: Predicting epizoochorous dispersal potential[J]. *Oecologia*,2007,153(2):331–339.
- [5] HUGHES L, WESTOBY M. Effect of diaspore characteristics on removal of seeds adapted for dispersal by ants[J]. *Ecology*,1992,73(4):1300–1312.

(上接第 20 页)

GR)活性受到盐胁迫环境的抑制较明显。除了 APX 和 GR,其他 3 种酶类活性在 25 mmol/L 的盐胁迫条件下,与对照组相比显著降低,而 APX 和 GR 活性在盐浓度 ≥ 50 mmol/L 的环境中才比对照组显著降低。

综上所述,虽然陇春 27 号和陇春 30 号大部分抗氧化酶类活性对盐胁迫的响应十分敏感,但是从发芽率的表现上来看,陇春 27 号和陇春 30 号小麦种子都对低盐浓度表现出一定的耐受性,这可能是由于除了抗氧化酶类,小麦种子中其他能够抵抗盐胁迫的调节物在抗盐过程中起到了更加主动的调节作用(比如可溶性糖、脯氨酸等渗透性调节物)。高盐胁迫条件下,抗氧化酶类活性快速降低,造成种子中积累的 ROS 无法及时清理,这种次生胁迫对种子的正常萌发造成了一定的影响,在低盐浓度下表现为发芽速度降低,高盐浓度下就表现为发芽率和发芽势的全面被抑制,对小麦的后续生长十分不利,因此在种植过程中,保证土壤中合理的 NaCl 浓度(一般不应大于 50 mmol/L)对小麦种子的萌发和正常生长有着十分重要的作用。

- [6] TACKENBERG O, POSCHLOD P, KAHMEN S. Dandelion seed dispersal: The horizontal wind speed does not matter for long-distance dispersal-It is Updraft! [J]. *Plant biology*,2003,5(5): 452–454.
- [7] 朱葛晓龙,朱敏,季璐,等. 入侵杂草小飞蓬和钻形紫菀种子风传扩散生物学特性研究[J]. 农业环境科学学报,2011,30(10): 1978–1984.
- [8] 郑景明,桑卫国,马克平. 种子的长距离风传播模型研究进展[J]. 植物生态学报,2004,28(3): 414–425.
- [9] 张海亮,朱敏,李干金. 影响加拿大一枝黄花种子非随机脱落的因素[J]. 植物生态学报,2015,39(3): 258–263.
- [10] 郭强,朱敏,徐勤,等. 五种杂草种子沉降速度[J]. 生态学杂志,2008,27(4): 519–523.
- [11] 王学进,李鑫,戴梅. 一种测量风传种子沉降速度系统的设计与实现[J]. 常熟理工学院学报,2014,28(4):95–99.
- [12] 潘燕,王帅,王崇云,等. 云南松与云南油杉种子风力传播特征比较[J]. 植物分类与资源学报,2014,36(3): 403–410.
- [13] 郝建华,强胜,杜康宁,等. 十种菊科外来入侵种连萼瘦果风力传播的特性[J]. 植物生态学报,2010,34(8):957–965.
- [14] 朱金雷,刘志民. 种子传播生物学主要术语和概念[J]. 生态学杂志,2012,31(9):2397–2403.
- [15] 关广清,张玉茹,孙国友,等. 杂草种子图鉴[M]. 北京:科学出版社,2000:300.
- [16] 张建,周存宇,费永俊. 6 种蒲公英种子扩散能力研究[J]. 种子,2014,33(7): 70–72.
- [17] 王崇云,潘燕,朱晓媛,等. 紫茎泽兰在弃耕地上的种子风传播与种群建立特征[J]. 杂草科学,2015,33(3):1–5.
- [18] 许留兴,张锦华,叶红环,等. 紫茎泽兰种子沉降特征研究[J]. 草地学报,2016,24(3):693–698.
- [19] SCHULZ B, DÖRING J, GOTTSBERGER G. Apparatus for measuring the fall velocity of anemochorous diaspores with results from two plant communities[J]. *Oecologia*,1991,86(3): 454–456.
- [20] 江苏省植物研究所. 江苏植物志[M]. 南京:江苏人民出版社,1977:182–183.
- [21] JONGEJANS E, PEDATELLA N M, SHEA K, et al. Seed release by invasive thistles: The impact of plant and environmental factors[J]. *Proceedings of the royal society B*,2007,274(1624):2457–2464.
- [22] 刘明虎,朱金雷,辛智鸣,等. 用于研究种子风力传播的野外环境风洞[J]. 生态学杂志,2015,34(6): 1770–1778.

参考文献

- [1] 熊建林. 盐胁迫对不同种源地燕麦种子萌发的影响研究[J]. 安徽农学通报,2015,21(20):21–23.
- [2] 张超强,杨颖丽,王莱,等. 盐胁迫对小麦幼苗叶片 H₂O₂ 产生和抗氧化酶活性的影响[J]. 西北师范大学学报(自然科学版),2007,43(1):71–75.
- [3] 贺岩,李志岗,陈云昭,等. 外源脯氨酸对盐胁迫下大豆离体胚再生植株生理特征及线粒体结构的影响[J]. 大豆科学,2000,19(4):314–319.
- [4] 齐志广,黄占景,沈银柱. 盐胁迫对小麦耐盐突变体苗期超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 河北师范大学学报(自然科学版),2002,26(4):406–409.
- [5] 梁超,王超,杨秀风,等. ‘德抗 961’小麦耐盐生理特性研究[J]. 西北植物学报,2006,26(10):2075–2082.
- [6] AEBI H. Catalase in vitro[J]. *Methods Enzymol*,1984,105:121–126.
- [7] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000.
- [8] RAO M V, PALIYATH G, ORMROD D P. Ultraviolet-B and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant physiology*,1996,110(1):125–136.
- [9] NAKANO Y, ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. *Plant and cell physiology*,1981,22(5):867–880.
- [10] 金梦阳,危文亮. ⁶⁰Co γ 射线辐照对连续随子保护酶活性的影响[J]. 核农学报,2008,22(5):569–572.