

水飞蓟萌发期和苗期对盐胁迫的生长生理响应

张晓倩, 王康才*, 张彦南, 王 乾, 崔志伟

(南京农业大学 园艺学院, 南京 210095)

摘 要: 为了探讨水飞蓟萌发期和苗期对盐胁迫的响应, 比较不同水飞蓟类型耐盐性的强弱, 以黑色果皮(SD)和白色果皮(HW)2个类型水飞蓟为材料, 用不同浓度 NaCl(0、0.1%、0.3%、0.5%、0.7%、0.9%)溶液处理种子和幼苗, 观察种子发芽势、发芽率和芽苗和幼苗生长及其生理生化特征。结果表明: (1) NaCl 胁迫下, 水飞蓟种子发芽率、发芽势下降, 芽苗生长表现为低浓度促进高浓度(HW 为 $\geq 0.5\%$, SD 为 $\geq 0.3\%$)抑制, 且盐分对子叶长、胚轴长和鲜重影响较大, 对干重无显著影响。(2) 盐胁迫下水飞蓟幼苗叶片中 MDA 含量升高, 光合色素(Chl a、Chl b、Car)含量下降, 幼苗生长表现为低浓度促进高浓度(HW 为 $\geq 0.9\%$, SD 为 $\geq 0.7\%$)抑制; 植株体内可溶性蛋白、可溶性糖含量及保护酶(SOD、POD、CAT)活性先升高后降低, 脯氨酸含量则持续增加, 其中保护酶活性在 0.7% NaCl 处理下较对照显著下降, 可溶性蛋白和可溶性糖含量在 0.9% NaCl 处理下较对照显著下降。研究发现, 在水飞蓟种子萌发期, 盐分主要通过改变种子吸胀能力来影响芽苗生长; 在苗期, 水飞蓟幼苗主要通过提高渗透物质含量和保护酶活性来缓解盐分造成的伤害; 水飞蓟萌发期和苗期耐盐性有所差别, 萌发期耐盐能力明显低于苗期, 2个类型水飞蓟耐盐性强弱表现为白色果皮类型>黑色果皮类型。

关键词: 水飞蓟; 盐胁迫; 萌发期; 苗期; 生理生化特征

中图分类号: Q945.78

文献标志码: A

Physiological and Biochemical Responses of *Silybum marianum* to Salt Stress at Germinating and Seedling Stages

ZHANG Xiaoqian, WANG Kangcai*, ZHANG Yannan, WANG Qian, CUI Zhiwei

(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: To explore the responses to salt stress in germinating stage and seedling stage of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (white rind type, HW; black rind type, SD), and compare the salt tolerances of two *S. marianum* cultivars. Treating the seeds and seedlings of two *S. marianum* cultivars by different concentrations of NaCl, germination energy, germination rate, bud seedling, seedling growth condition and physiological and biochemical characteristics were observed. Results showed that: (1) The germination energy, germination rate decreased under NaCl stress. The low density NaCl showed promoting function and high density NaCl expressed inhibitory function (HW: NaCl concentration $\geq 0.5\%$, SD: NaCl concentration $\geq 0.3\%$) on the bud seedling growth. NaCl has great influence on radical, plumular axis length and fresh weight, and has no significant effect on dry weight. (2) The content of malondialdehyde (MDA) increased in young leaves, while photosynthetic pigment contents decreased. The low density NaCl showed promoting function and high density NaCl expressed inhibitory function (HW: NaCl concentration $\geq 0.9\%$, SD: NaCl concentration $\geq 0.7\%$) on the seedling growth. The soluble sugar, soluble protein contents and activities of protective enzymes (including SOD, POD and CAT) increased at first and then decreased in young leaves, among them, soluble sugar and protein contents decreased significantly than that of control when NaCl concentra-

收稿日期: 2013-07-09; 修改稿收到日期: 2013-09-23

基金项目: 江苏省镇江市农业项目支持(R0201100292); 南京农业大学 SRT 项目资金支持(1114A15)

作者简介: 张晓倩(1988—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事药用植物栽培与生理方面的研究。E-mail: 2011104182@njau.edu.cn

* 通信作者: 王康才, 教授, 导师, 主要从事药用植物栽培与生理方面的研究。E-mail: wangkc@njau.edu.cn

tion was 0.9%, while the activities of protective enzymes decreased significantly than that of control when NaCl concentration was 0.7%. Proline content increased continuously. It was found that NaCl effected bud seedling growth by altering the ability of seed imbibition at the seed germination stage, and *S. marianum* seedlings could promote the osmotic substance contents and activities of protective enzymes to relieve the damage of NaCl at seedling stage. The ability of salt tolerance at seedling stage was significantly stronger than that at germinating stage of *S. marianum*, and the ability of salt tolerance of HW was stronger than that of SD.

Key words: *Silybum marianum* (L.) Gaertn.; NaCl stress; germinating stage; seedling stage; physiological and biochemical characteristics

土壤盐渍化是影响农业生产、生态环境及可持续发展的严重问题。据统计,全世界盐渍土面积约有 9.5×10^8 hm^2 , 中国的盐渍土面积约 1×10^8 hm^2 ^[1], 并随着生态环境恶化和不合理开发利用仍在进一步扩大。目前,通过挖掘植物本身的耐盐能力,筛选和培育出耐盐品种是开发利用盐渍土壤最为经济有效的途径。

水飞蓟 [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] 为菊科水飞蓟属植物,以干燥成熟果实入药,其主要有效成分为水飞蓟素。现代药理研究证明,水飞蓟素具有稳定和 protect 肝细胞膜、改善肝功能、防治糖尿病和保护心肌细胞等功能^[2],近年来需求量日益增加。水飞蓟适应性强,对土壤要求不严格,可利用盐碱地种植。但目前对水飞蓟的研究多集中在栽培技术、化学成分和药理作用方面,关于其耐盐特性尚未见报道。Asinsm^[3] 和 Bretom^[4] 曾报道植物的耐盐性随发育时期不同而变化。但一般情况下,植物在种子萌发和幼苗生长阶段受盐胁迫伤害最大,耐盐能力的大小是决定栽培是否成功的关键。为此,本研究采用不同浓度 NaCl 溶液处理 2 个类型水飞蓟种子及幼苗,以探讨盐胁迫对水飞蓟种子萌发、芽苗及幼苗生长、植株生理生化特征的影响,了解 2 个类型水飞蓟萌发期和苗期的耐盐性,为水飞蓟的耐盐性评价与筛选及盐碱地的开发利用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 植物材料

实验材料为本课题组在江苏水飞蓟产区选择黑色果皮(SD)和白色果皮(HW)果实 2 个栽培类型。经南京农业大学园艺学院中药系王康才教授鉴定为菊科植物水飞蓟 [*Silybu marianum* (L.) Gaertn.] 的果实。

1.2 试验设计

1.2.1 萌发期耐盐性比较 试验在室内光照培养箱中进行,设置 NaCl 浓度分别为 0(CK)、0.1%、

0.3%、0.5%、0.7%、0.9% 的 6 个处理。选取饱满、大小一致的水飞蓟种子,用 1% NaClO 消毒 15 min 后用无菌水反复冲洗,然后在室温下用试验设置的相应浓度的 NaCl 处理溶液浸种 4 h,最后将种子均匀置于铺有 2 层滤纸的培养皿(直径 10 cm)中,再各加入 8 mL 相应的 NaCl 处理溶液,置于智能光照培养箱中培养,温度为 25 ℃,每隔 2 d 换 1 次处理液,以保证 NaCl 浓度。每处理 50 粒种子,重复 5 次。以胚根突破种皮记为种子萌发。每天记录发芽种子数,并在处理第 7 天每处理选 25 株测定相关指标。

1.2.2 苗期耐盐性比较 试验在南京农业大学中药材科学系实验基地进行。将水飞蓟种子播种在基质为蛭石的周转箱内,待长至 2 叶 1 心时,选生长一致的幼苗移栽。盆栽基质由石英砂和蛭石按 1:2 混匀而成,每盆 6 株,重复 5 次。NaCl 处理浓度梯度设置同 1.2.1,每 15 d 浇 1 次,每次 1 000 mL。定期浇灌 Hoagland 营养液,每次 1 000 mL。期间用称重法补充相应的水分。盐处理 4 次后测定叶片中相关生理指标。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 萌发期相关指标 在萌发期测量胚根长、胚轴长、干重、鲜重、发芽率、发芽势和相对盐害率。

$$\text{发芽率}(Gr) = n/N \times 100\%$$

式中, n 为第 7 天累积发芽种子数, N 为供试种子总数。

$$\text{发芽势}(Ge) = n/N \times 100\%$$

式中, n 为第 4 天累积发芽种子数, N 为供试种子总数。

相对盐害率(%) = (处理萌芽率 - 对照萌芽率) / 对照萌芽率 $\times 100\%$ (处理萌芽率大于对照时为无盐害,记为 0)。

1.3.2 苗期相关指标 在苗期测定株高、根长、鲜重和干重。生理指标测定参照李合生等^[5] 方法:其中,叶绿素含量采用乙醇浸提法测定;超氧化物歧化

酶(SOD)活性采用氮蓝四唑法测定;过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定;过氧化氢酶(CAT)活性采用高锰酸钾滴定法测定;游离脯氨酸含量测定采用磺基水杨酸法测定;可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定;可溶性蛋白质含量采用 Folin 酚法测定;丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定。

1.4 数据处理

数据用 Excel 2003 和 SPSS 20.0 软件处理。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫对水飞蓟种子萌发的影响

两种类型水飞蓟种子经不同浓度的 NaCl 溶液处理后,其发芽率和发芽势均随 NaCl 浓度增大而逐渐降低,而盐害指数则随之增加,即种子萌发均受到不同程度的抑制(表 1)。其中,在 0.1% NaCl 胁迫处理下,HW 和 SD 种子萌发受盐胁迫影响较小,与对照差异不显著;当 NaCl 处理浓度大于 0.1% 时,随着浓度增大种子发芽率和发芽势显著降低,盐害指数显著增加。在相同处理条件下,黑果皮水飞蓟(SD)种子的发芽率、发芽势始终低于白果皮水飞

蓟(HW),而其盐害指数始终高于 HW,与对照相比,SD 在 0.9%NaCl 胁迫处理下的发芽率、发芽势分别降低58.8%、61.2%,盐害指数则增加58.8%,而 HW 则分别相应为 40.4%、35.9%、40.4%,说明 HW 种子对 NaCl 胁迫的耐受力比 SD 更强。

2.2 NaCl 胁迫对水飞蓟芽苗和幼苗生长的影响

2.2.1 芽苗生长 由表 2 可知,HW 和 SD 水飞蓟芽苗的胚根长、胚轴长、鲜重和干重随着 NaCl 胁迫浓度的升高均呈现先升高后降低的趋势,且两种材料各指标均分别在 NaCl 浓度为 0.3%和 0.1%时达到最大值;盐胁迫对芽苗的胚根长、胚轴长和鲜重影响较大,各处理浓度间差异显著,而干重在各处理间差异不显著。其中,HW 的胚根长、胚轴长及鲜重的最大值(0.3% NaCl)分别比对照显著增加了 45.03%、92.68%、72.64%,各指标分别在浓度为 0.7%、0.7%、0.5%即开始显著低于对照;而 SD 的胚根长、胚轴长及鲜重的最大值(0.1% NaCl)分别比对照增加了 5.84%、5.82%和 5.48%,但均未达显著水平,各指标分别在浓度为 0.5%、0.3%、0.3%时就开始显著低于对照。可见,水飞蓟芽苗生长受到低浓度的NaCl的促进,而受到高浓度NaCl

表 1 NaCl 胁迫下水飞蓟种子萌发情况

Table 1 The seed germination of two *S. marianum* cultivars under salt stress (n=5)

盐浓度 Salt concentration /%	发芽率 Germination rate/%		发芽势 Germination energy/%		盐害指数 Salt injury index/%	
	HW	SD	HW	SD	HW	SD
0	85.3±1.34aA	80.8±5.69aA	76.7±2.72aA	70.8±6.31aA	0eA	0dA
0.1	80.8±3.19abA	75.8±1.67aB	69.2±3.19abA	68.3±6.94abA	5.23±1.95deA	6.1±2.06dA
0.3	71.7±7.93bcA	65.0±4.30bA	60.8±6.87bcA	62.5±3.19bA	15.8±9.30cdA	19.6±5.33cA
0.5	65.8±9.95cA	57.5±5.69cA	58.3±8.82cA	46.7±2.72cB	22.8±11.67bcA	28.8±7.05bA
0.7	60.8±7.31cdA	53.3±6.09cA	56.7±4.71cdA	35.0±4.30dB	28.7±8.66abA	34.0±7.53bA
0.9	50.8±6.31dA	33.3±2.72dB	49.2±4.19dA	27.5±1.67eB	40.4±7.40aB	58.8±3.37aA

注:HW. 白果皮类型;SD. 黑果皮类型;不同小写字母表示盐处理间差异达 0.05 显著水平;不同大写字母表示类型间差异达 0.05 显著水平;下表同。

Note: HW. White rind type; SD. Black rind type; Different lowercase letters indicate the significant difference among salt treatments at 0.05 level; Different capital letters indicate the significant difference among types at 0.05 level; The same as below.

表 2 NaCl 胁迫下水飞蓟芽苗生长指标的变化

Table 2 The changes of bud seedlings growth characters of *S. marianum* under salt stress(n=25)

指标 Characteristics	类型 Types	盐浓度 Salt concentration/%					
		0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
胚根长 Radical length /cm	HW	6.04±1.43bcA	6.50±1.65bA	8.76±1.25aA	4.86±2.08cA	3.36±0.81dA	1.80±0.76eA
	SD	5.48±1.46aA	5.80±0.72aA	5.36±1.47aB	4.20±0.97bA	3.08±0.94cA	0.71±0.23dB
胚轴长 Plumular axis length/cm	HW	3.69±1.36cB	4.63±1.24bB	7.11±0.92aA	3.28±1.14cA	1.63±0.46dA	1.49±0.47dA
	SD	5.67±0.77aA	6.00±1.61aA	4.75±1.23bB	3.32±1.04cA	1.65±0.45dA	1.07±0.27dB
鲜重 Fresh weight /g	HW	0.201±0.085bA	0.200±0.057bA	0.347±0.066aA	0.163±0.064cA	0.089±0.044dA	0.096±0.033dA
	SD	0.219±0.051aA	0.231±0.071aA	0.189±0.049bB	0.142±0.048cA	0.088±0.022dA	0.061±0.011dB
干重 Dry weight /g	HW	0.013±0.002 5aA	0.014±0.002 9aA	0.015±0.002 2aA	0.013±0.001 1aA	0.014±0.002 2aA	0.013±0.004 0aA
	SD	0.010±0.001 1aB	0.011±0.001 6aB	0.010±0.003 0aB	0.010±0.001 5aB	0.010±0.001 9aB	0.009±0.002 2aB

的抑制;HW 水飞蓟受促进的作用更强,能耐受 NaCl 的浓度更高,而 SD 类型受促进作用不明显,对 NaCl 的胁迫伤害更敏感。

2.2.2 幼苗生长 HW 和 SD 水飞蓟幼苗的根长、株高、鲜重和干重随着 NaCl 胁迫浓度升高均呈现先升高后降低的趋势(表 3)。在 NaCl 浓度为 0.3% 时,SD 的根长、株高、鲜重及干重均达到最大值,分别比对照显著增加了 16.15%、14.63%、25.95% 和 18.22%($P<0.05$),前三者在浓度达到 0.7% 时即比对照显著降低,而干重与对照无显著差异。HW 的株高、鲜重及干重均在 NaCl 浓度为 0.5% 时达到最大值,分别比对照显著增加了 32.47%、84.77% 和 20.07%;而 HW 的根长在 NaCl 浓度为 0.7% 时达到最大值,比对照显著增加了 28.85%。根长、株高、鲜重均在浓度为 0.9% 时才显著低于对照,而干重与对照无显著差异。可见,水飞蓟幼苗生长在低浓度的 NaCl 处理可以促进,在高浓度下则受到抑制;HW 幼苗生长受到 NaCl 的促进作用更明显,受抑制更轻,耐盐性更强。

表 3 NaCl 胁迫下对水飞蓟幼苗生长指标的变化

Table 3 The changes of seedling growth characters of *S. marianum* under salt stress(n=20)

指标 Characteristics	类型 Types	盐浓度 Salt concentration/%					
		0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
根长 Root length /cm	HW	14.56±1.08dA	15.73±1.65cA	16.5±1.65bcA	17.04±0.90bA	18.76±1.25aA	12.80±1.29eA
	SD	13.81±1.12cA	15.24±0.72bA	16.04±0.73aA	14.82±0.77bB	12.93±0.77dB	10.71±0.23eB
株高 Height /cm	HW	16.69±0.72dB	19.54±1.23bB	20.09±1.69bA	22.11±0.92aA	18.28±1.14cA	15.68±1.32eA
	SD	18.32±1.04cA	20.67±0.77aA	21.00±1.61aA	19.65±1.24bB	16.65±0.45dB	15.47±0.93eA
鲜重 Fresh weight /g	HW	29.61±3.34dB	38.50±4.58bA	40.11±5.61aA	54.71±4.46aA	36.28±4.38cA	27.43±2.87eA
	SD	34.18±4.82cA	41.94±5.13aA	43.05±4.66aA	38.92±4.92bB	28.84±2.22dB	26.07±1.14eA
干重 Dry weight /g	HW	2.84±0.32bcA	3.06±0.22bA	3.14±0.27bA	3.41±0.81aA	2.97±0.32bcA	2.61±0.56cA
	SD	2.58±0.45bcA	2.73±0.30bB	3.05±0.47aA	2.65±0.23bB	2.44±0.39bcB	2.32±0.32cA

表 4 NaCl 胁迫下水飞蓟幼苗叶片中光合色素含量的变化

Table 4 The changes of photosynthetic pigment contents of *S. marianum* under salt stress (n=3)

指标 Characteristics	类型 Types	盐浓度 Salt concentration/%					
		0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
叶绿素 a Chl a /(mg·g ⁻¹)	HW	1.04±0.003aB	0.87±0.102bB	0.71±0.061cA	0.55±0.003dB	0.45±0.022eA	0.32±0.039fB
	SD	1.11±0.012aA	0.96±0.097bA	0.81±0.088cA	0.65±0.010dA	0.53±0.047eA	0.40±0.046fA
叶绿素 b Chl b /(mg·g ⁻¹)	HW	0.51±0.009aA	0.45±0.104aA	0.42±0.088abA	0.37±0.040abcA	0.31±0.067bcA	0.25±0.048cA
	SD	0.48±0.005aA	0.44±0.075abA	0.41±0.068abA	0.37±0.018abA	0.34±0.073bA	0.23±0.074cA
类胡萝卜素 Car /(mg·g ⁻¹)	HW	0.20±0.002aA	0.18±0.032abA	0.15±0.042bcA	0.13±0.014cdA	0.11±0.014dA	0.09±0.019dA
	SD	0.19±0.004aA	0.18±0.012abA	0.17±0.014abA	0.15±0.017bcA	0.12±0.025cA	0.10±0.041cA
叶绿素 a/b Chl a/Chl b	HW	2.05±0.031aA	1.95±0.267aA	1.77±0.497aA	1.48±0.165abA	1.07±0.336bA	1.79±0.473aA
	SD	2.28±0.050aA	2.20±0.172aA	1.98±0.121aA	1.77±0.061aA	1.64±0.479aA	1.94±0.825aA
总叶绿素 Chl /(mg·g ⁻¹)	HW	1.55±0.012aB	1.32±0.205bB	1.13±0.041cA	0.91±0.037dB	0.76±0.060dA	0.57±0.082eA
	SD	1.59±0.006aA	1.39±0.171bA	1.21±0.155bcA	1.03±0.028cdA	0.87±0.073dA	0.63±0.085eA

叶片中光合色素含量对高浓度(>0.7%)NaCl胁迫更敏感,而HW栽培类型又比SD类型更敏感。

2.4 NaCl胁迫对水飞蓟幼苗叶片中抗氧化酶活性和MDA含量影响

在NaCl胁迫下,两类型水飞蓟幼苗叶片中SOD、POD和CAT活性均随着浓度的增加表现出先增加后降低的趋势(表5)。其中,在低浓度(0.1%)NaCl处理下,HW和SD叶片中SOD活性显著增加,而POD和CAT活性仅小幅度增加且没有达到显著水平;中浓度(0.3%~0.5%)NaCl处理下,HW和SD叶片中SOD、POD和CAT活性均急剧增加,并于浓度为0.5%时达到最大值,此时HW分别比对照显著增加了45.5%、61.3%、174.7%,SD分别比对照显著增加35.4%、49.7%和102.4%;高浓度(>0.7%)NaCl处理下,HW和SD叶片的SOD、POD和CAT活性急剧下降,在浓度为0.9%时活性均达到最小值并显著低于对照。

另外,不同浓度的盐胁迫均能使两类型水飞蓟幼苗叶片MDA含量升高,并随着处理盐浓度的升高而相应持续增加,且各处理间及其与对照间均差异显著(表5)。在NaCl浓度为0.9%时达到最大值,HW和SD叶片中MDA含量分别比对照增加

了显著135.2%和175.2%。

以上结果说明,SOD、POD、CAT在低浓度NaCl处理下能通过提高活性来减轻水飞蓟幼苗受到的伤害,高浓度则酶活性降低。其中,HW水飞蓟3种酶活性增加幅度较SD类型大,MDA含量增加幅度较SD类型小,可见其耐盐性更强。

2.5 NaCl胁迫对水飞蓟幼苗叶片中渗透性物质含量的影响

从表6可以看出,两类型水飞蓟幼苗叶片中可溶性蛋白、可溶性糖含量均随着NaCl胁迫浓度增加先增加后降低,而游离脯氨酸(Pro)含量则持续增加,且处理间存在显著差异。其中,HW和SD幼苗叶片可溶性蛋白和可溶性糖含量分别在NaCl浓度为0.5%和0.7%时达到最大值,此时HW的可溶性蛋白和可溶性糖含量分别比对照显著增加了225.1%、73.0%,而SD则分别显著增加了174.5%和112.2%;当浓度为0.9%时,两类型幼苗的可溶性蛋白和可溶性糖含量均急剧下降,此时HW的可溶性蛋白比对照显著增加44.4%,其可溶性糖含量则比对照显著降低13.7%,而SD的可溶性蛋白含量比对照降低2.1%,可溶性糖含量比对照显著提高26.9%。另外,HW和SD型水飞蓟幼苗叶片中

表5 NaCl胁迫下水飞蓟幼苗叶片中抗氧化酶活性和MDA含量的变化

Table 5 The changes of antioxidant enzyme activities and MDA content of *S. marianum* under salt stress(n=3)

指标 Characteristics	类型 Types	盐浓度 Salt concentration/%					
		0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
SOD 活性 SOD activity /(U·g ⁻¹)	HW	90.18±2.905cB	111.16±3.634bB	128.74±1.260aB	131.17±1.289aB	106.74±3.298bB	48.67±2.878dB
	SD	108.28±1.517eA	126.51±1.085cA	138.36±1.696bA	146.58±1.446aA	113.59±3.306dA	61.63±2.096fA
POD 活性 POD activity /(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	HW	160.41±7.916dB	170.44±4.911cB	217.50±6.591bA	258.76±1.429aB	179.46±2.896cB	143.19±1.126eA
	SD	199.19±2.886cA	203.69±2.660cA	215.12±7.749bA	298.21±4.933aA	189.18±1.041dA	130.27±1.284eB
CAT 活性 CAT activity /(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	HW	12.84±1.386cA	13.34±0.165cB	24.22±2.071bB	35.27±3.326aA	10.65±1.513cdB	7.12±1.347dA
	SD	14.93±0.600bA	16.34±1.057bA	27.57±1.591aA	30.22±1.882aB	11.61±1.842cA	6.86±1.511dA
MDA 含量 MDA content /(μmol·g ⁻¹)	HW	6.61±0.080eA	8.85±1.071dA	9.74±0.816dA	11.76±0.017cA	13.33±1.144bA	15.55±0.672aA
	SD	5.57±0.127eB	6.48±0.122eA	9.38±0.233dA	10.99±0.403cA	12.39±0.190bA	15.33±1.159aA

表6 NaCl胁迫下水飞蓟幼苗叶片中渗透性物质含量的变化

Table 6 The changes of osmotic substance contents of *S. marianum* under salt stress(n=3)

盐浓度 Salt concentration /%	可溶性蛋白含量 Soluble protein content/(mg·g ⁻¹)		可溶性糖含量 Soluble sugar content/(mg·g ⁻¹)		游离脯氨酸含量 Free proline content/(mg·g ⁻¹)	
	HW	SD	HW	SD	HW	SD
0	3.42±0.651dA	2.86±0.012dA	8.44±0.099bA	7.65±0.799eA	3.65±0.152fA	2.92±0.239eA
0.1	4.29±0.688cdA	3.62±0.841dA	8.86±0.225bA	8.97±0.492dA	4.66±0.190eA	4.20±0.591eA
0.3	7.11±0.332bA	4.69±0.533cB	9.45±0.752bA	10.89±0.751cA	6.20±0.187dA	7.29±0.710dA
0.5	11.12±0.570aA	7.85±0.161aB	9.07±0.577bB	12.29±0.638bA	9.06±0.195cB	13.79±0.633cA
0.7	6.77±0.739bA	5.67±0.470bB	14.60±0.638aA	16.23±0.577aA	13.32±0.892bB	16.98±0.734bA
0.9	4.94±0.418cA	2.80±0.651dA	7.28±0.408cB	9.71±0.061dA	17.34±0.217aA	21.46±2.165aA

Pro 含量随 NaCl 浓度的增大而持续增加,在浓度为 0.9% 时达到最大值,此时分别比对照显著增加了 375.1% 和 634.9%。

以上结果说明,可溶性蛋白、可溶性糖和 Pro 均能在水飞蓟幼苗受到盐胁迫时积极响应,其中,HW 水飞蓟中可溶性蛋白对盐胁迫的耐受性较可溶性糖大,SD 类型中可溶性糖对盐胁迫的耐受性较可溶性蛋白大,Pro 在 2 种类型中对盐胁迫的耐受性均较大,但对 SD 类型作用更大。

3 讨 论

3.1 水飞蓟种子萌发对盐胁迫的响应特征

植物种子耐盐性是耐盐碱植物筛选与早期鉴定的主要依据之一。一般认为,盐分能对种子产生渗透胁迫和离子胁迫^[6],影响种子吸水能力,从而抑制种子萌发及芽苗的生长。但一些盐生植物需要一定浓度的 Na^+ 和 Cl^- 来维持其正常生长,低浓度盐分能促进其生长,高浓度则抑制生长^[7]。本实验中,盐胁迫下,种子萌发率和萌发势降低,但 NaCl 浓度为 0.1% 时,两者下降不显著,说明水飞蓟种子对低浓度盐分有一定的耐受性。SD 和 HW 水飞蓟分别在 NaCl 浓度小于 0.1% 和 0.3% 时正常生长,说明水飞蓟芽苗需要一定的 Na^+ 和 Cl^- ,可能 Na^+ 和 Cl^- 进入细胞导致细胞内渗透压增加,吸涨能力增强,从而促进芽苗生长。高浓度 NaCl 对水飞蓟芽苗生长的抑制作用则可能与土壤中过高的渗透势引起的渗透胁迫及细胞内过多的离子造成的离子毒害有关^[8]。此外,盐胁迫对芽苗鲜重的影响较干重大,说明盐胁迫主要通过影响种子吸水能力来影响种子萌发及芽苗生长。

3.2 盐胁迫下幼苗生长和光合色素含量响应特征

植物幼苗对盐分较敏感,是否能正常生长发育是产量形成的关键。生长抑制是植物对盐渍响应最敏感的过程^[9],对于耐盐植物,低浓度的盐分能促进幼苗生长,高浓度盐分则抑制生长^[10]。本研究表明,SD 和 HW 水飞蓟分别在 NaCl 浓度小于 0.5% 和 0.7% 正常生长,说明水飞蓟对低浓度盐胁迫有一种适应性反应,能通过增强自身保护酶活性、渗透性物质含量来抵抗盐分胁迫。当 NaCl 浓度为 0.9% 时,生长受到抑制,可能由于光合能力降低,同化量减少,渗透调节能耗和维持能耗导致生长量和积累量减少^[11]。

植物叶片中 Chl 含量随盐浓度的升高而下降,可能由于 Chl 酶活性增强,促使 Chl 分解^[12];或由

于在盐胁迫下,植物叶片细胞中 Chl 与叶绿体蛋白间结合变得松弛,使更多的 Chl 遭到破坏^[13];另外,NaCl 胁迫会使 Car 含量降低,减少了对活性氧的淬灭,加速 Chl 的分解。本研究中,盐胁迫下,水飞蓟植株叶片中 Chl a、Chl b 和 Car 含量降低,可能由盐胁迫下光合色素的分解速率大于合成速率导致。其中,Chl a 较 Chl b 敏感,原因在于 Chl a 更多地结合在光系统反应中心上,而 Chl b 主要结合在捕光蛋白复合物上。由此可见,盐胁迫使水飞蓟光合色素含量和比例发生变化,降低光合作用效率、减少同化物和能量的提供,进而抑制幼苗的生长。

3.3 盐胁迫下幼苗抗氧化酶活性和 MDA 含量的响应特征

盐胁迫下,植物细胞内活性氧的产生和清除失衡,植株体内聚集大量活性氧,导致膜脂过氧化,MDA 是膜脂过氧化的最终产物,常被作为脂质过氧化指标^[14]。在胁迫条件下,SOD、POD、CAT 3 种酶的协同作用降低氧自由基的积累及阻遏 O_2^- 、 H_2O_2 通过 Fenton 型 Haber-Weiss 反应向破坏性极强的 $\cdot\text{OH}$ 转化,从而避免或减轻了自由基对生物大分子如核酸、蛋白质(酶)等的降解破坏及对生物膜的损害^[15]。本研究表明,盐胁迫下,3 种酶均能积极响应,提高活性使氧自由基保持较低水平,来减轻伤害或保护水飞蓟幼苗不受伤害,其中,低浓度 NaCl 更易激发 SOD 活性,而中浓度则更易激发 POD 和 CAT 活性。高浓度下保护酶活性急剧降低,可能因为高浓度盐胁迫产生过多的活性氧直接破坏生物大分子,使酶活性丧失^[16]。另外,3 种酶调节能力有限的,不能完全清除植株所产生的自由基,仍有一部分过剩自由基诱发了膜脂过氧化作用,导致 MDA 含量增加。

3.4 盐胁迫下水飞蓟幼苗渗透性物质的响应特征

游离 Pro、可溶性糖、可溶性蛋白不仅是植物体内有效的渗透调节剂,其中,游离 Pro 还能保护蛋白质分子和酶活性;可溶性糖还是合成其他有机溶质的碳架和能量来源,对细胞质膜和原生质胶体有稳定作用,可在细胞内无机离子浓度高时起保护酶类的作用^[17];可溶性蛋白含量与植物的保水能力有一定的关系。本实验研究结果表明,3 种渗透物质在 NaCl 胁迫下能在水飞蓟幼苗体内迅速积累,降低细胞内渗透势,增强植物渗透调节能力,促进植物吸水,保证植物能够正常生长,但当 NaCl 浓度过高(0.9%),植物生理机能受到严重破坏,可溶性糖和可溶性蛋白积累受抑制,分解速度加快,含量下降,

但 Pro 仍能维持较高浓度。有研究表明,盐胁迫下可溶性蛋白分解加速,分解为脯氨酸等各种氨基酸,使脯氨酸含量升高^[18]。本研究中高浓度盐胁迫下 Pro 含量较高可能与此有关,但具体原因仍需进一步分析。

综上所述,盐胁迫下,2 种类型水飞蓟均有一定的耐盐性,且苗期的耐盐性较萌发期的大,耐盐性强弱顺序均为 HW>SD。在种子萌发期,种子萌发受到抑制,芽苗子叶长、胚轴长和鲜重对盐胁迫响应较大,干重无显著变化,盐分主要通过影响种子吸水膨胀的能力来影响芽苗生长。在苗期,水飞蓟幼苗叶片中 MDA 含量升高,光合色素(Chl a、Chl b、Car)

含量下降,光合受到抑制,植株体内可溶性蛋白、可溶性糖含量及保护酶(SOD、POD、CAT)活性先提高,当 NaCl 浓度过高植物生理机制受到严重破坏时降低,Pro 含量则持续升高。水飞蓟苗期耐盐机理为:低浓度 NaCl($\leq 0.5\%$)胁迫下,水飞蓟幼苗通过提高渗透物质含量和保护酶活性来缓解盐分造成的氧自由基过多及渗透胁迫,高浓度 NaCl($0.7\% \sim 0.9\%$)胁迫下则通过提高渗透性物质特别是 Pro 含量来减轻伤害。此外,盐胁迫对水飞蓟芽苗和幼苗的生长影响均表现为高浓度促进低浓度抑制,其机理有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 黄昌勇. 土壤学[M]. 北京:中国农业出版社,2000:303.
- [2] YAN Y F(闫玉峰), YU D J(于健东). Advances in studies on chemical constituents and pharmacological activity of *Silybum marianum* [J]. *Chinese Pharmaceutical Affairs* (中国药事), 2000, **14**(5): 335—337 (in Chinese).
- [3] ASINSM J, BRETOM P, CAMBRA M, et al. Salt tolerance in *Lycopersicon* species. I. Character definition and changes in gene expression[J]. *Theor. Appl. Genet.*, 1993, **85**: 769—774.
- [4] BRETOM P, ASINSM J, CARBONELLE A. Genetic variability in *Lycopersicon* species and their genetic relationships[J]. *Theor. Appl. Genet.*, 1993, **86**: 113—120.
- [5] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000:167—169, 260—261.
- [6] SUN X F(孙小芳), LIU Y L(刘友良), CHEN Q(陈沁). Recent progresses in studies on salinity tolerance in cotton[J]. *Acta Gossypii Sinica* (棉花学报), 1998, **10**(3): 118—124 (in Chinese).
- [7] WANG B Z(王宝增), ZHAO K F(赵可夫). Effect of low NaCl concentration on the growth of *Zea mays* L. [J]. *Plant Physiology Communications* (植物生理学通讯), 2006, **42**(4): 628—632 (in Chinese).
- [8] SULEYMAN I, ATSUSHI S, YOSHITAKA N, et al. Ionic and osmotic effects of NaCl-induced inactivation of photosystems I and II in *Synechococcus* sp. [J]. *Plant Physiology*, 2000, **123**: 1 047—1 056.
- [9] LI W X(李卫欣), CHEN G L(陈贵林), ZHAO L(赵利), et al. Tolerance of NaCl stress on different Pumpkin seedling[J]. *Journal of Plant Genetic Resources* (植物遗传资源学报), 2006, **7**(2): 192—196 (in Chinese).
- [10] WANG B Z(王宝增), LIU Y J(刘玉杰). Physiological effects of low concentration of NaCl on nonhalophyte *Triticum aestivum* L. [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University* (南京农业大学学报), 2009, **32**(2): 15—19 (in Chinese).
- [11] LUO Q Y(罗庆云), YU B J(於丙军), LIU Y L(刘友良). Effect of NaCl on the growth, K^+ , Na^+ and Cl^- distribution in seedlings of 6 soybean cultivars (*Glycine max* L. Merrill)[J]. *Soybean Science* (大豆科学), 2001, **20**(3): 177—182 (in Chinese).
- [12] RAO G, RAO R. Pigment composition and chlorophyllase activity in pigment *Pea* and *Gingelly* under NaCl salinity[J]. *Indian Journal Experimental Biology*, 1986, **19**: 768—770.
- [13] 赵可夫. 植物抗盐生理[M]. 北京:中国科学技术出版社,1993:87.
- [14] HE SH B(何树斌), LIU G L(刘国利), YANG H M(杨惠敏). Changes and mechanism in response of photosynthetic rates of *Lucerne* residue to cutting under different water treatments[J]. *Acta Prataculturae Sinica* (草业学报), 2009, **18**(6): 192—197 (in Chinese).
- [15] 余叔文, 汤章城. 植物生理学与分子生物学(2 版)[M]. 北京:科学出版社,1998:366—389.
- [16] GAO Y(高岩), ZHANG R M(张汝民), YAO Y F(姚云峰), et al. Study on relation of activities of protective enzymes and membrane lipid peroxidation of *Haloxylon ammodendron* Bge. [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Neimongol* (Nat. Sci. Ed.) (内蒙古大学学报·自然科学版), 1997, **28**(2): 253—256 (in Chinese).
- [17] ZHANG H Y(张海燕), ZHAO K F(赵可夫). Effects of salt and water stresses on osmotic adjustment of *Suaeda salsa* seedlings[J]. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), 1998, **40**(1): 56—61 (in Chinese).
- [18] WANG G B(汪贵斌), CAO F L(曹福亮). Effects of salinity on growth and physiology of *Bald cypress* seedling[J]. *Journal of Nanjing Forestry University* (Nat. Sci. Ed.) (南京林业大学学报·自然科学版), 2003, **27**(3): 11—14 (in Chinese).