

人工合成甘蓝型油菜早期世代及其亲本对盐胁迫的生理响应

杜 坤¹, 孔 芳^{1,2}, 孔月琴¹, 黄哲进¹, 王幼平^{1*}

(1 扬州大学 生物科学与技术学院, 江苏扬州 225009; 2 安徽工程大学 生物与化学工程学院 安徽芜湖 241000)

摘 要:以白菜‘矮抗青’(基因组 AA)和‘中花芥蓝’(基因组 CC)及其人工合成异源四倍体甘蓝型油菜(AACC)的早期世代($F_1 \sim F_4$)为实验材料,采用水培方法分别比较它们在 100、200 mmol/L NaCl 处理下的生理指标差异。结果表明:(1)在盐胁迫条件下,‘中花芥蓝’植株的生物量、脯氨酸和叶绿素含量、抗氧化酶(SOD、POD、CAT)活性均最低,而相对电导率、MDA 含量则最高。在 100 mmol/L NaCl 处理下, F_2 代植株的生物量、叶绿素含量、SOD 活性最大,MDA 含量最低;在 200 mmol/L NaCl 处理下, F_4 代的生物量、叶绿素含量、POD 活性最大,MDA 含量最低。研究发现,亲本‘矮抗青’的耐盐特性高于亲本‘中花芥蓝’,它们的杂种后代(异源四倍体)遗传了 AA 基因组的耐盐特性,从而比二倍体亲本具有更强的抵御盐胁迫的能力。

关键词:人工合成甘蓝型油菜;杂交后代;盐胁迫;生理指标

中图分类号: Q945.78

文献标志码: A

Physiological Response in Early Generations of Resynthesized *Brassica napus* and Their Parents under Salt-stress

DU Kun¹, KONG Fang^{1,2}, KONG Yueqin¹, HUANG Zhejin¹, WANG Youping^{1*}

(1 College of Bioscience and Biotechnology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China; 2 Department of Biochemistry Engineering, Anhui Polytechnic University, Wuhu, Anhui 241000, China)

Abstract: In this study the difference of physiological characteristics of four early generations of synthesized *Brassica napus* allotetraploid ($F_1 \sim F_4$) and their parents *B. napus* (AA), *B. oleracea* (CC) under 100 mmol/L, 200 mmol/L NaCl treatments through hydroponics culture was detected. The results demonstrated that the biomass, content of proline, relative chlorophyll, activities of antioxidant enzymes of *B. oleracea* were the lowest, while the relative conductivity, and MDA content were the highest. Furthermore, the biomass, relative chlorophyll content, activities of SOD of F_2 generation were higher than other materials under 100 mmol/L NaCl treatment, MDA content contrarily. The biomass, relative chlorophyll content, activities of POD of F_4 generation were higher than others under 200 mmol/L NaCl treatment, MDA content contrarily. The results of comparative analysis in the effect of varieties and salt stress suggested that *B. oleracea* with CC genome is more sensitive to salt stress than *B. napus* with AA genome. The salt tolerance of four synthesized *Brassica* early generations is better than diploid parents, because they inherit the salt tolerance performance of *B. napus* AA genome.

收稿日期: 2014-02-02; 修改稿收到日期: 2014-06-13

基金项目: 中国博士后科学基金(2013M541735); 江苏省博士后科研资助计划(1301048B); 江苏省高校自然科学基金(13KJB210007); 江苏省研究生创新项目(CXZZ12_0897)

作者简介: 杜 坤(1980—), 男, 讲师, 在读博士研究生, 主要从事植物生理生化研究。E-mail: dukun@yzu.edu.cn

* 通信作者: 王幼平, 教授, 博士生导师, 主要从事油菜遗传育种研究。E-mail: wangyp@yzu.edu.cn

Key words: resynthesized *Brassica napus*; hybrid progenies; salt-stress; physiological index

日益加剧的土壤盐渍化与次生盐渍化是限制农作物生长、发育和产量最严重的非生物胁迫之一,也是困扰和威胁农业生产的世界性难题^[1-2]。盐胁迫会使植物细胞产生大量的活性氧,破坏叶片光合作用、阻碍蛋白质的合成、影响能量代谢,从而抑制植物的生长^[3]。不同植物由于其耐盐方式和耐盐机制的不同,其组织或细胞的生理代谢和生化变化也不同^[4-5]。植物可通过提高抗氧化酶系统活性、产生渗透调节蛋白、提高色素含量、改善叶片光合作用等途径来减轻盐胁迫的伤害^[6-8]。

油菜是芸薹属中一种重要的油料作物,目前产量位居全球油料作物第二位^[9]。在中国长江中、下游地区主要以种植甘蓝型油菜(*Brassica napus*, AACC, $2n=38$)为主,其具有高产、抗病、抗逆性强及适应性广等优点^[10-11]。“禹氏三角关系”表明了芸薹属植物具有丰富的异源四倍体,因而使其成为研究多倍体进化的好材料^[12]。人工合成甘蓝型油菜是拓宽油菜种质资源的一个重要途径,同时也是研究芸薹属异源多倍体进化的有效手段^[13]。在自然界中,多倍体植株往往要比二倍体植株适应外界逆境的能力更强^[14]。研究表明,芸薹属植物在盐胁迫下的生长、产量及产油量受到严重的影响^[15],但其中二倍体亲本和异源四倍体植物对盐胁迫反应存在明显的种内和种间差异^[16]。因此,研究人工合成甘蓝型油菜早期世代及其亲本在盐胁迫下的应答机制对阐明作物应对胁迫的遗传决定因子具有重要的意义^[17]。

本试验以人工合成甘蓝型油菜早期世代($F_1 \sim F_4$)及其亲本(白菜和甘蓝)为材料,研究其在不同浓度 NaCl 处理下的生理指标变化,试图阐明人工合成甘蓝型油菜(异源四倍体)应对盐胁迫的生理应答机制与二倍体亲本之间的差异。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验材料矮抗青(*Brassica rapa*, 基因组 AA, $2n=20$, 以下简称 AA)和中花芥蓝(*B. oleracea*, 基因组 CC, $2n=18$, 以下简称 CC),以及人工合成甘蓝型油菜(*B. napus*, 基因组 AACC, $2n=38$)第 1 至第 4 代($F_1 \sim F_4$)种子均保存在扬州大学遗传学实验室。

1.2 幼苗培养与处理

将上述种子浸种催芽后,分别移入装有珍珠岩的塑料盆中,用 Hoagland 营养液浇灌,20 ℃、14 h 光照(3 000 lx)/10 h 黑暗条件下生长。待幼苗长至 4~6 叶时,选取生长良好、一致的矮抗青、中花芥蓝及其杂种后代 F_1 、 F_2 、 F_3 、 F_4 共 6 组分别用 3 种不同浓度的 NaCl 处理溶液,处理液用 Hoagland 营养液配置,其分别含有 0 (CK)、100、200 mmol/L 的 NaCl,每个材料取 5 株分别处理。处理后每 2 d 补水 1 次,处理 7 d 后分别取相同位置的叶片测定其生理指标。

1.3 生理指标的测定

叶片相对电导率按 Maribel 的方法,使用梅特勒托利多 DELTA 326 进行测定^[18];叶片叶绿素相对含量使用柯尼卡美能达 SPAD-502 叶绿素计进行测定;叶片中 SOD 活性的测定采用 NBT 光还原法^[19];POD 活性的测定采用愈创木酚比色法^[20];CAT 活性的测定采用 H_2O_2 紫外吸收法^[21];叶片中丙二醛(MDA)含量的测定采用硫代巴比妥酸法^[22];脯氨酸含量的测定采用磺基水杨酸法^[23];酶液中蛋白质的含量采用考马斯亮蓝 G250 法测定^[19]。将植株鲜样品材料置 105 ℃烘箱中 10 min 后转至 95 ℃烘干至恒重,称重获得干重(g),以上所有指标重复 3 次。

1.4 数据处理与统计

实验数据使用 Sigmaplot 2000 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对各类材料植株生物量的影响

随着 NaCl 处理浓度的增加,二倍体 AA、CC 及其杂种后代 $F_1 \sim F_4$ 植株的生物量总体呈现下降趋势(图 1)。其中,在 100 mmol/L NaCl 处理下,仅 CC 和 F_3 代植株生物量比对照(0 mmol/L NaCl)显著降低, F_2 植株生物量反而有一定的增加;在 200 mmol/L NaCl 处理下,AA、CC、 F_1 、 F_3 代植株的生物量均比对照显著降低;无论是低浓度还是高浓度的盐胁迫处理下, F_2 和 F_4 代植株的生物量均无显著变化。材料间比较而言,CC 植株的生物量在同等条件下均为所有材料中最低,而 F_4 代植株均处于较高水平。以上结果说明盐胁迫不同程度地影响了各类植株生物量的积累;对于两个二倍体亲本 AA

和 CC 而言,盐胁迫对 CC 植株的生长影响大于 AA,即亲本白菜 AA 比亲本甘蓝 CC 更耐盐;F₁~F₄ 代植株在不同浓度盐胁迫下生物量积累的下降存在一定的差异,但是生物量积累减少的程度都小于亲本 CC,且低浓度的盐胁迫对 F₂ 代的生长影响较小。

2.2 盐胁迫对各类材料叶片相对电导率、相对叶绿素和脯氨酸含量的影响

随着 NaCl 处理浓度的增加,供试材料或株系叶片的相对电导率均出现逐渐升高的趋势,在 100 mmol/L NaCl 处理条件下,除 F₄ 代外的其他植株叶片的电导率与对照(0 mmol/L NaCl)相比均显著升高,而在 200 mmol/L NaCl 处理条件下所有植株叶片的电导率比对照均显著升高。无论是低浓度(100 mmol/L NaCl)处理还是高浓度(200 mmol/L NaCl)盐处理,二倍体亲本 CC 叶片的相对电导率均为最大,且显著大于另一二倍体亲本 AA 以及杂种后代,而 F₁~F₄ 代植株叶片电导率在不同浓度盐处理条件下的变化呈现不同的差异(表 1)。这表明盐处理可使油菜植株细胞受到渗透胁迫,影响质膜的透性,进而导致细胞内的电解质的外渗;二倍体亲本 CC 在不同浓度盐胁迫下的电解质外渗率均显著大

于二倍体亲本 AA 及其杂种后代;F₁~F₄ 代植株质膜受盐胁迫的影响有一定的差异。

同时,随着 NaCl 处理浓度的增加,供试材料叶片中的叶绿素相对含量整体呈现下降趋势,仅其中的 F₂ 代植株则出现先升高后降低的现象(表 1)。

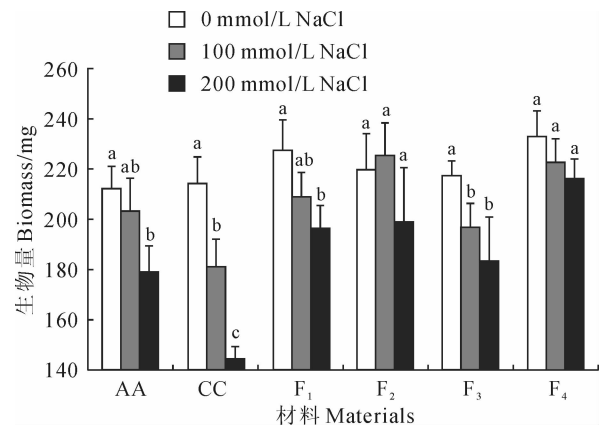


图 1 不同浓度 NaCl 处理下各类材料植株的生物量
不同小写字母表示同一株系不同处理间在 0.05 水平上差异显著

Fig.1 The plant biomass of different materials
under NaCl stress

Different small letters in the same line indicate significant
difference among treatments at 0.05 level

表 1 不同浓度 NaCl 处理条件下各材料植株叶片的相对电导率、叶绿素含量和脯氨酸含量
Table 1 The relative conductivity,relative chlorophyll and proline contents of leaves under NaCl stress

材料 Material	NaCl 浓度 Concentration of NaCl /(mmol/L)	相对电导率 Relative conductivity /%	相对叶绿素含量 Relative chlorophyll content	脯氨酸含量 Proline content /(μmol/g)
AA	0(CK)	13.60±0.41 b	1.48±0.01 a	3.77±0.6 b
	100	15.66±0.74 a	1.39±0.03 b	4.03±0.29 a
	200	16.54±1.04 a	1.25±0.04 c	4.76±0.50 a
CC	0(CK)	12.29±0.47 c	1.51±0.05 a	2.41±0.17 b
	100	19.06±0.63 b	1.30±0.02 b	2.87±0.41 b
	200	22.59±1.14 a	1.10±0.08 c	3.44±0.16 a
F ₁	0(CK)	12.45±0.60 b	1.53±0.16 a	2.78±0.11 c
	100	15.07±0.85 a	1.44±0.13 ab	3.61±0.38 b
	200	16.22±0.41 a	1.23±0.10 b	4.75±0.29 a
F ₂	0(CK)	11.82±0.24 c	1.51±0.06 a	3.42±0.50 a
	100	14.04±0.87 b	1.57±0.17 a	3.49±0.54 a
	200	16.80±0.44 a	1.32±0.21 a	3.53±0.29 a
F ₃	0(CK)	11.46±0.78 b	1.46±0.18 a	2.81±0.37 b
	100	13.91±0.76 a	1.39±0.06 a	2.80±0.11 b
	200	15.36±0.85 a	1.17±0.08 b	4.63±0.50 a
F ₄	0(CK)	13.13±0.94 b	1.68±0.02 a	3.14±0.73 b
	100	14.02±0.63 b	1.46±0.09 b	3.41±0.46 b
	200	17.54±0.91 a	1.34±0.18 b	4.70±0.15 a

注:同一列同一株系的不同小写字母表示在 5% 水平上差异显著;下同。
Note:For the same line,different small letters indicate significant difference among treatments at 5% level;The same as below.

其中,在 200 mmol/L NaCl 处理条件下,除 F₂ 代植株外,其余材料的叶绿素含量均显著小于各自的对照组;二倍体亲本 CC 在 2 种盐处理条件下的叶片叶绿素相对含量均低于二倍体亲本 AA 及其杂种后代;F₂ 代植株在低浓度盐(100 mmol/L NaCl)处理下的叶片叶绿素含量大于其他所有材料。这表明,盐胁迫可使油菜植株的叶绿素合成受到抑制或加快叶绿素的分解,导致叶绿素积累量的减少;二倍体亲本 CC 在 2 种浓度的盐处理下的叶片叶绿素的积累量均低于 AA,其对盐的敏感性较二倍体 AA 强;杂种后代在盐胁迫下叶片的叶绿素积累均大于相应盐胁迫浓度的 CC,且后代之间叶绿素的合成、代谢受盐胁迫的影响程度不同。

另外,随着 NaCl 处理浓度的增加,供试材料叶片中的脯氨酸含量总体呈现上升的趋势,且其中的 F₂ 代植株在 2 种盐胁迫时上升幅度不显著,其他材料叶片中的脯氨酸含量在 200 mmol/L NaCl 处理下相比对照组显著增加;二倍体亲本 CC 在不同浓度的盐胁迫时,其脯氨酸的含量低于二倍体亲本 AA,且多数情况下低于杂种后代(表 1)。结果表明:盐处理会对油菜植株叶片细胞产生渗透胁迫,细胞在受到渗透胁迫时会产生一定比例的脯氨酸,其可作为渗透调节物来降低胁迫对细胞产生进一步的伤害^[24-25]。所有供试油菜材料在受到盐胁迫时会大

量合成脯氨酸来缓解胁迫对细胞产生的负作用,而二倍体亲本 CC 在盐胁迫下产生的渗透调节物脯氨酸含量水平较低,它对盐胁迫的调节能力较二倍体亲本 AA 要差;杂种后代产生的渗透调节物含量不一,但总体均大于二倍体亲本 CC,其中 F₁ 代植株在受到盐胁迫时产生的脯氨酸量最多。

2.3 盐胁迫对各类材料叶片 MDA 含量和抗氧化酶活性的影响

随着 NaCl 处理浓度的升高,供试材料叶片中的 MDA 积累量均呈现上升的趋势,其中在 200 mmol/L NaCl 处理下的二倍体亲本 AA 以及 F₁、F₃ 和 F₄ 代植株的 MDA 积累量显著大于各自的对照组;材料间比较而言,二倍体亲本 CC 的 MDA 积累量在 2 种浓度的 NaCl 处理条件下均最高,F₂ 代植株在低浓度 NaCl 处理条件下的 MDA 积累量最低,而 F₄ 代在高浓度 NaCl 处理下 MDA 积累量最低(表 2)。

同时,在低浓度 NaCl 处理条件下,供试材料叶片中的 SOD 活性均出现上升趋势,且除了二倍体 CC 以外的其他材料均显著大于各自的对照组;而随着盐处理浓度的升高,供试材料叶片中的 SOD 活性并没有相应地显著升高,F₂、F₃ 和 F₄ 代植株甚至比低浓度盐处理时低;相比较而言,二倍体亲本 CC 在 2 种浓度的盐处理下的叶片 SOD 活性均为最低,

表 2 不同浓度 NaCl 处理条件下各材料植株叶片中 MDA 含量和抗氧化酶活性

Table 2 The MDA content and SOD, POD, CAT activities of leaves under NaCl stress

材料 Material	NaCl 浓度 Concentration of NaCl/(mmol/L)	丙二醛含量 MDA content /(μ mol/g)	SOD 活性 SOD activity /(U/g)	POD 活性 POD activity /(U/g)	CAT 活性 CAT activity /(U/g)
AA	0(CK)	0.111 \pm 0.006 b	180.24 \pm 2.55 b	424.33 \pm 17.79 b	57.07 \pm 3.88 c
	100	0.126 \pm 0.008 ab	202.42 \pm 0.87 a	535.67 \pm 10.97 a	73.53 \pm 3.52 b
	200	0.141 \pm 0.006 a	202.98 \pm 2.12 a	429.67 \pm 10.02 b	84.70 \pm 1.42 a
CC	0(CK)	0.126 \pm 0.010 a	178.28 \pm 3.58 a	404.33 \pm 21.73 b	51.13 \pm 4.02 b
	100	0.135 \pm 0.016 a	181.52 \pm 1.62 a	414.00 \pm 15.87 a	58.73 \pm 0.50 a
	200	0.145 \pm 0.020 a	184.26 \pm 5.68 a	369.33 \pm 14.05 c	58.20 \pm 2.31 ab
F ₁	0(CK)	0.108 \pm 0.004 b	180.84 \pm 1.31 b	354.33 \pm 4.93 c	51.67 \pm 2.08 b
	100	0.124 \pm 0.012 ab	196.73 \pm 2.05 a	507.00 \pm 14.53 b	73.37 \pm 4.24 a
	200	0.127 \pm 0.008 a	198.72 \pm 5.30 a	605.00 \pm 19.47 a	80.57 \pm 2.96 a
F ₂	0(CK)	0.085 \pm 0.007 a	187.79 \pm 2.89 c	304.00 \pm 24.00 c	61.93 \pm 3.93 b
	100	0.089 \pm 0.018 a	213.71 \pm 3.44 a	433.33 \pm 16.29 b	90.37 \pm 3.35 a
	200	0.098 \pm 0.008 a	199.94 \pm 5.24 b	485.33 \pm 4.16 a	92.20 \pm 3.56 a
F ₃	0(CK)	0.083 \pm 0.008 b	176.39 \pm 3.22 c	382.67 \pm 12.22 c	56.27 \pm 1.80 b
	100	0.089 \pm 0.010 b	206.27 \pm 5.16 a	493.67 \pm 9.07 a	88.77 \pm 2.67 a
	200	0.121 \pm 0.009 a	196.78 \pm 2.49 b	444.33 \pm 30.66 b	89.93 \pm 1.45 a
F ₄	0(CK)	0.076 \pm 0.006 b	185.67 \pm 4.79 b	422.00 \pm 22.54 c	61.10 \pm 2.92 c
	100	0.093 \pm 0.012 ab	208.98 \pm 6.95 a	602.67 \pm 19.73 b	93.83 \pm 1.72 a
	200	0.097 \pm 0.010 a	196.72 \pm 3.28 ab	658.67 \pm 8.33 a	82.73 \pm 3.60 b

F₂ 代植株在低浓度盐处理时叶片 SOD 活性最高。植株叶片中的 POD 活性在低浓度盐处理时均比对照有所提高,且除了 CC 以外的其他材料均达到显著水平;随着盐处理浓度的升高,F₁、F₂ 和 F₄ 代叶片中的 POD 活性相应地增加,AA、CC 和 F₃ 代植株则相应地减少;二倍体 CC 植株在 2 种浓度的盐处理下的叶片 POD 活性均为最低,而 F₄ 代则最高。

另外,在盐处理条件下,与前 2 种酶活性表现相似,供试材料叶片中的 CAT 活性也相应增加,且在低浓度盐处理下,这种增加相比对照组呈显著性差异;但随着盐处理浓度的提高,二倍体 AA 以及 F₁、F₂ 和 F₃ 代叶片中的 CAT 活性继续增加,其中的二倍体 AA 活性变化显著,而 CC、F₄ 代则出现了下降的现象;在所有供试材料中,二倍体 CC 在任一种盐处理下的叶片 CAT 活性均为最低,且与其他材料相比差异显著,F₄ 代在低浓度盐处理下叶片 CAT 活性最高,F₂ 代在高浓度盐处理下叶片 CAT 活性最高(表 2)。

植物在受到盐胁迫时,可通过增加细胞内的抗氧化酶活性来抵御逆境,分解氧自由基等物质,进而降低过量氧自由基对细胞的毒害^[24]。综合以上结果可知,油菜的 2 个二倍体亲本材料在受到不同浓度的盐胁迫时,二倍体 CC 的抗氧化酶活性均比二倍体 AA 低,而 MDA 积累量却比 AA 多,进一步表明 CC 的耐盐能力比 AA 弱;所有杂种后代受到盐胁迫时植株的抗氧化酶活性均比二倍体亲本 CC 高,部分还高于二倍体 AA,同时 MDA 积累量比 CC 和 AA 都要少,说明油菜杂种异源四倍体的耐盐能力相比二倍体亲本 CC 有较大的提升,且高于二倍体 AA,不同后代在盐胁迫时抗氧化酶系统的活性和 MDA 积累量的差异表明其耐盐能力也存在一定的差别。

3 讨 论

盐胁迫是一种影响植物生长的重要非生物因子。对于大多数植物来说,苗期是对环境胁迫最敏感的时期之一,盐敏感品种基本无法生存,萌发期与苗期的耐盐等级呈极显著正相关($P < 0.01$)^[26]。本试验研究了芸薹属 2 个二倍体‘矮抗青’(AA)和‘中花芥蓝’(CC)以及以其作为亲本获得人工合成的甘蓝型油菜(AACC)杂种后代 F₁ 至 F₄ 代,在不同浓度的 NaCl 处理条件下生理指标的变化差异。结果发现,盐胁迫会影响这些植物的生长发育,并以‘中花芥蓝’(CC)在 2 种浓度盐胁迫下的生物量均为最

低,表现出较强的盐敏感性,而‘矮抗青’(AA)具有较强的耐盐特性;F₁ 到 F₄ 代植株在不同浓度盐胁迫时的生物量积累均大于二倍体 CC,说明了杂种后代由于 AA 基因组的存在,部分继承了该基因组的耐盐特性;F₂、F₄ 分别在低浓度盐和高浓度盐胁迫时的生物量积累最大,说明其对盐胁迫有较强的适应性。同时,盐胁迫会破坏植物体内的叶绿素合成与代谢的平衡,一方面叶绿素酶活性增加,使叶绿素趋于分解,另一方面使叶绿素的合成受到抑制^[19],最终表现为叶绿素含量的减少。本试验中‘中花芥蓝’在不同浓度盐胁迫下的叶片叶绿素含量均为最低,表明其对盐胁迫比较敏感;而杂种后代相应的叶绿素含量较高,说明杂种四倍体后代的耐盐能力得到了一定程度的提高;F₂、F₄ 代植株分别在低浓度盐和高浓度盐胁迫时的叶绿素积累量最大,说明盐胁迫对其叶片中叶绿素代谢平衡的破坏相对较轻。

植物受到盐胁迫后,可以通过积累渗透调节物质抵抗盐胁迫的伤害。Koca 等^[24]和 Tripathi 等^[25]的研究结果表明盐胁迫条件下植物体内大量积累脯氨酸。本研究也发现盐胁迫促使‘矮抗青’和‘中花芥蓝’的叶片中均积累脯氨酸,从而来抵抗逆境,但后者脯氨酸的积累量显著小于前者,这与两者在盐胁迫下生物量积累的差异表现相一致,也表明‘矮抗青’对盐胁迫的适应性要高于‘中花芥蓝’。而杂种后代在盐胁迫时脯氨酸的积累量要比‘中花芥蓝’高,也说明杂种异源四倍体后代(AACC)的耐盐性要强于其亲本‘中花芥蓝’(CC)。

另外,盐胁迫也使植物体内活性氧代谢平衡受到影响,使得 O₂⁻、H₂O₂ 等活性氧含量增加从而引起非酶促膜脂过氧化作用;同时,盐胁迫会促使清除活性氧的抗氧化酶系统如 SOD、POD 与 CAT 的活性发生改变^[24]。多数研究认为,在盐胁迫条件下抗氧化酶活性会相应地增强^[25-27]。其中,SOD 在整个抗氧化酶体系中处于重要地位,它可使活性氧发生转移,并为 POD 和 CAT 间接消除活性氧提供底物^[28];而 CAT 和 POD 主要是起酶促降解 H₂O₂ 的作用,避免因 H₂O₂ 的过量积累导致毒性更大的 OH⁻ 含量增加而对细胞膜产生伤害^[29-30]。本研究中,所有供试材料在低浓度盐胁迫时,上述抗氧化酶的活性均增加,从而有效清除由于盐胁迫产生的氧自由基;随着盐处理浓度的提高,部分植株的 SOD 和 CAT 出现了下降的趋势,说明盐胁迫下抗氧化酶活性的变化并无明显的规律。二倍体‘中花芥蓝’在盐胁迫时抗氧化酶活性的增加不显著,且小于其

他供试材料,说明其在盐胁迫下不能较好地通过提高抗氧化酶活性来清除氧自由基,从而加快活性氧对细胞的毒害作用; F_2 代植株在低浓度盐胁迫时,叶片中的 SOD 活性最高, F_4 代植株在 2 种浓度盐胁迫下叶片 POD 活性均最高, F_4 、 F_2 代分别在低浓度和高浓度盐胁迫下叶片的 CAT 活性最高,表明杂种后代在盐胁迫下抗氧化酶系统的活性变化表现不一, F_2 和 F_4 代具有较高的氧自由基清除能力。

如果体内保护酶系统不能及时清除盐胁迫产生的过量活性氧,就会发生膜脂过氧化反应,从而会改变质膜透性,使细胞内容物外渗,从而使相对电导率增加^[31]。本研究表明,在盐胁迫条件下,所有材料的相对电导率都有一定程度的增加,并以二倍体‘中花芥蓝’叶片相对电导率增加的幅度和值最高,说明其对盐胁迫较敏感;而同期二倍体‘矮抗青’以及杂种后代叶片相对电导率增加的较少,表明其具有较强的耐盐能力。MDA 作为细胞膜质过氧化产物,它的积累可作为植物叶片的细胞膜遭受破坏程度的指标^[29-32]。同样,‘中花芥蓝’在盐胁迫下叶片 MDA 积累量最大,而 F_1 至 F_4 代叶片 MDA 的积累量均小于‘中花芥蓝’,甚至小于‘矮抗青’,说明‘中花芥蓝’细胞膜遭受的破坏程度要大于‘矮抗青’以及杂种后代; F_2 、 F_4 代在 2 种不同浓度盐胁迫下,叶片 MDA 积累量相对而言较少,可能是由于它们此

时具有更强的抗氧酶活性所致。

综上所述,在盐胁迫条件下,二倍体‘矮抗青’通过增加更多的细胞内渗透调节物质,以及更大幅度提高抗氧化酶系统的活性来抵抗盐胁迫,从而减少质膜透性的改变,减少 MDA 的积累,维持叶绿素和生物量的积累,总体上表现出比二倍体‘中花芥蓝’更好的耐盐特性。有研究报道,在芸薹属“禹氏三角关系”的 A、B、C 基因组中的 A 基因组携带有耐盐基因,而 C 基因组则较敏感^[1],这与本研究结果是一致的。二倍体‘中花芥蓝’(CC)与‘矮抗青’(AA)杂种后代表现出较强的耐盐特性,可能是由于杂种后代因 AA 基因组的存在,部分继承了该基因组的耐盐特性。这与人研究认为芸薹属多倍体植物 *B. napus*、*B. carinata* 和 *B. juncea* 的耐盐性要高于二倍体亲本 *B. rapa*、*B. oleracea* 和 *B. nigra* 的结果是一致的^[33-34]。另外,本研究中 F_1 至 F_4 代中部分植株的耐盐特性甚至高于二倍体‘矮抗青’,可能是异源四倍体(AACC)对逆境的适应能力更高的缘故;至于 F_1 至 F_4 代之间在不同浓度的盐处理条件下表现出耐盐特性的差异,可能与多倍体杂种经过杂种多倍化后发生的基因组重组过程复杂多样以及盐胁迫所导致的核型不稳定、有丝分裂紊乱和非整倍化等因素有关。而这些又是如何影响其耐盐生理机制的,尚有待从分子机理方面进一步阐明。

参考文献:

- [1] ZENG CH L(曾长立), DONG Y H(董元火). Physiological effects of exogenous calcium on *Brassica* seedlings under the salt stress[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences* (中国油料作物学报), 2008, 30: 433—437 (in Chinese).
- [2] LIU Z X, ZHANG H X, YANG X Y, LIU T. Research advances in gene and genetic engineering for saline-alkaline tolerance of forest trees [J]. *World Forestry Research*, 2012, 25(5): 11—17.
- [3] PANDA A K, DAS A B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2005, 60: 324—349.
- [4] LIU G H(刘国红), JIANG CH Q(姜超强), LIU ZH P(刘兆普), et al. Effects of salt stress on growth and photosynthetic traits of canola seedlings[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment* (生态与农村环境学报), 2012, 28(2): 157—164 (in Chinese).
- [5] YANG X J(杨小菊), ZHAO X(赵 昕), YIN H X(殷恒霞), et al. *Brachypodium distachyon* seedling growth and ionic homeostasis in its different organs under salt stress[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.* (西北植物学报), 2013, 33(2): 371—377 (in Chinese).
- [6] KEUTGEN A J, PAWELZIK E. Contribution of amino acids to strawberry fruit quality and their relevance as stress indicators under NaCl salinity[J]. *Food Chemistry*, 2008, 111: 642—647.
- [7] DUAN J J, LI J, GUO S R, et al. Exogenous spermidine affects polyamine metabolism in salinity-stressed *Cucumis sativus* roots and enhances short-term salinity tolerance[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2008, 165: 1 620—1 635.
- [8] ZHENG Y H, WANG Z L, SUN X Z, et al. Higher salinity tolerance cultivars of winter wheat relieved senescence at reproductive stage [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2008, 62: 129—138.
- [9] PRITI M, GOPALAN S, IGOR K. Optimization of *Brassica napus* (canola) explant regeneration for genetic transformation[J]. *New Biotechnology*, 2011, 29: 144—155.
- [10] FENG X J(冯学金), LIU G K(刘根科). Application of modern biotechnology in enhancement of *Brassica napus* L. germplasm[J]. *Chi-*

- nese Agricultural Science Bulletin*(中国农学通报),2010,26:13—17(in Chinese).
- [11] LONG W H(龙卫华),PU H M(浦惠明),CHEN S(陈 松),*et al.* Evaluation for salt tolerance of three cultivated species of rapeseeds at germination stage[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*(植物遗传资源学报),2013,15(1):35—40(in Chinese).
- [12] SCHRANZ M E,OSBORN T C. De novo variation in life-history traits and responses to growth conditions of resynthesized polyploid *Brassica napus*(Brassicaceae)[J]. *American Journal of Botany*,2004,91:174—183.
- [13] CHEN Z J,NI Z F. Mechanisms of genomic rearrangements and gene expression changes in plant polyploids[J]. *Bio. Essays*,2006,28:240—252.
- [14] STEBBINS G L. Chromosomal variation and evolution[J]. *Science*,1966,152:1 463—1 469.
- [15] PURTY R S,KUMAR G,SINGLA-PAREEK S L,*et al.* Towards salinity tolerance in *Brassica*:an overview[J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*,2008,14:39—49.
- [16] ASHRAF M,MCNEILLY T. Salinity tolerance in *Brassica* oilseeds[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*,2004,23:157—174.
- [17] KUMAR G,PURTY R S,SHARMA M P,*et al.* Physiological responses among *Brassica* species under salinity stress show strong correlation with transcript abundance for SOS pathway-related genes[J]. *Journal of Plant Physiology*,2009,166:507—520.
- [18] DIONISIO-SESE,MARIBEL L,TOBITA S. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress[J]. *Plant Science*,1998,135:1—9.
- [19] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*,1976,72:248—254.
- [20] STEWART R R,BEWLEY J D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes[J]. *Plant Physiology*,1980,65:245—248.
- [21] CASTILLO F J,PENEL C,GREPPIN H. Peroxidase release induced by ozone in *Sedum album* leaves:involvement of Ca[J]. *Plant Physiology*,1984,74:846—851.
- [22] ZHAO SH J(赵世杰),XU CH CH(许长成),ZOU Q(邹 琦),*et al.* Improvement of method for measurement of MDA in plant tissues [J]. *Plant Physiology Communications*(植物生理学通讯),1994,30:207—210(in Chinese).
- [23] ZHANG D ZH(张殿忠),WANG P H(汪沛洪),ZHAO H X(赵会贤). Determination of the content of free proline in wheat leaves[J]. *Plant Physiology Communications*(植物生理学通讯),1990,4:62—65(in Chinese).
- [24] KOCA H,BOR M,OZDEMIR F *et al.* The effect of salt stress on lipid peroxidation,antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars[J]. *Environmental and Experimental Botany*,2007,60:344—351.
- [25] TRIPATHI S B,GURUMURTHI K,PANIGRAHI A K *et al.* Salinity induced changes in proline and betaine contents and synthesis in two aquatic macrophytes differing in salt tolerance[J]. *Biologia Plantarum*,2007,51:110—115.
- [26] ZHANG P(张 鹏),XU CH(徐 晨),XU K ZH(徐克章),*et al.* Fast identification method of salt-tolerance and research on salt-tolerance at different stages of soybean cultivars[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*(中国油料作物学报),2013,35(5):572—578(in Chinese).
- [27] RAZA S H,ATHAR H R,ASHRAF M,*et al.* Glycinebetaine-induced modulation of antioxidant enzymes activities and ion accumulation in two wheat cultivars differing in salt tolerance[J]. *Environmental and Experimental Botany*,2007,60:368—376.
- [28] STEWART R R,BEWLEY J D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes[J]. *Plant Physiology*,1980,65:245—248.
- [29] ROXAS V P,LODHI S A,GARRETT D K,*et al.* Stress tolerance in transgenic tobacco seedlings that overexpress glutathione S-transferase/glutathione peroxidase[J]. *Plant & Cell Physiology*,2000,41:1 229—1 234.
- [30] XU CH(徐 晨),LING F L(凌凤楼),XU K ZH(徐克章),*et al.* Effect of salt stress on photosynthetic characteristics and physiological and biochemical traits of different rice varieties[J]. *Chinese Journal of Rice Science*(中国水稻科学),2013,27(3):280—286(in Chinese).
- [31] LI K L(李凯龙),WANG Y T(王艺潼),HAN X X(韩晓雪),*et al.* Changes in reactive oxygen species and antioxidative defense mechanism in tomato leaves under low potassium stress[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.*(西北植物学报),2013,33(2):66—73(in Chinese).
- [32] MUNNS R. Comparative physiology of salt and water stress[J]. *Plant Cell and Environment*,2002,25:239—250.
- [33] ASHRAF M,MCNEILLY T. Responses of four *Brassica* species to sodium chloride[J]. *Environmental and Experimental Botany*,1990,30:475—487.
- [34] ASHRAF M. Relationships between growth and gas exchange characteristics in some salt-tolerant amphidiploid *Brassica* species in relation to their diploid parents[J]. *Environmental and Experimental Botany*,2001,45:155—163.