

盐胁迫对低温预处理石榴种子萌发 及幼苗生理生化的影响

武 冲, 尹燕雷*, 陶吉寒, 杨雪梅, 冯立娟

(山东省果树研究所, 山东泰安 271000)

摘 要:以催芽‘峰城大青皮甜’石榴种子为材料,经 2~4 ℃低温预处理 5、10 和 15 d,置于不同盐分梯度下进行种子萌发试验,并测定分析幼苗生长、细胞保护酶活性、可溶性糖和脯氨酸含量及电导率变化,以阐明盐胁迫下低温预处理对石榴种子萌发和幼苗生长及生理生化的影响。结果显示:(1)适当的低温预处理和低盐胁迫能提高石榴种子的发芽率和发芽势,低温处理 5 d 和 0.1% 低盐环境下有利于壮苗生长。(2)适当时间的低温预处理(5 d)可显著提高石榴幼苗的保护酶(SOD、POD、CAT)活性,长时间的低温预处理(15 d)却降低了幼苗的保护酶活性;随着盐浓度的升高石榴幼苗的保护酶活性也逐渐升高,并在盐浓度为 0.3% 时均达到最大值,说明当盐浓度高于 0.3% 时超出了石榴幼苗保护酶系统的调节范围,从而发生盐害。(3)低温预处理 5 d 和 10 d 降低了幼苗可溶性蛋白和脯氨酸的含量;随着盐浓度的升高幼苗可溶性蛋白和脯氨酸的含量也逐渐升高。(4)5 d 和 10 d 的低温预处理可以提高石榴幼苗细胞膜透性,随着盐浓度的升高相对电导率也显著升高。研究表明,在低盐环境下,适当时间的低温预处理能显著促进石榴种子萌发生长,其幼苗能通过调整自身渗透调节物质可溶性蛋白和脯氨酸含量以及体内保护酶活性,降低细胞膜脂过氧化程度,保证细胞膜的完整性,维持正常的细胞代谢活性,从而有效减轻盐胁迫对植株的伤害,表现出较强的抗盐性。

关键词:石榴;低温预处理;抗盐性;种子萌发;生理特征

中图分类号: Q945.78

文献标志码: A

Physiological and Biochemical Characteristics of Pre-chilling *Punica granatum* Seed Germination and Its Seedling under Salt Stress

WU Chong, YIN Yanlei*, TAO Jihan, YANG Xuemei, FENG Lijuan

(Shandong Institute of Pomology, Tai'an, Shandong 271000, China)

Abstract: The seedling growth, cell protective enzyme activities, soluble sugar and candied acid contents and conductivity changes of ‘Yichengqingpidazi’ seeds treated with pre-chilling (2–4 ℃) for different days (5, 10 and 15 d) under different salinity gradient (0, 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5% and 0.6%) were studied in order to clarify the effects of pre-chilling *Punica granatum* on seed germination and seedling physiological and biochemical characteristics. The results showed that: (1) Low temperature pretreatment and low salinity stress can increase the pomegranate seed germination rate and germination potential, low temperature processing 5 d and 0.1% salt environment conducive to the growth of seedlings. (2) Low temperature processing (5 d) can significantly increase the protective enzyme (SOD, POD, CAT) activities of pomegranate seedlings, prolonged cold treatment (15 d) reduced the protective enzyme activities of seedlings; Pomegran-

收稿日期: 2014-06-23; 修改稿收到日期: 2014-10-16

基金项目: 山东省国际科技合作项目 (2013GHZ31003); 科技部科技基础性工作专项子课题 (2012FY110100-4)

作者简介: 武 冲 (1983—), 男, 博士, 主要从事林木种质资源与遗传多样性研究。E-mail: wuchongge@163.com

* 通信作者: 尹燕雷, 副研究员, 现主要从事林木种质资源评价与遗传育种研究。E-mail: yylei66@sina.com

ate seedlings were occurred in salt damage when the salt concentration is higher than the 0.3 percent beyond the protective enzyme system adjustment range. (3) Seedlings decreased contents of soluble protein and proline under 5 d and 10 d pre-chilling. With salt concentration increasing, soluble protein and proline contents were gradually increased. (4) 5 d and 10 d pre-chilling can improve the pomegranate seedling membrane permeability, relative conductivity also increased significantly with increasing salt concentration. The study indicated that in low-salt environment 2—4 °C pre-chilling Pomegranate seedling could adjust growth enhance seedling osmotic adjustment ability to ensure normal growth of the plants needed water, while increasing the contents of soluble protein and proline to ensure their own protection seedling synthase, maintain normal metabolic activity of cells. In addition, by reducing the cell membrane lipid peroxidation to ensure the integrity of the cell membrane to improve its ability to adapt to adversity, thus effectively preventing membrane lipid peroxidation damage to plants, it showed strong salt resistance.

Key words: *Punica granatum*; pre-chilling treatment; salt resistance; seed germination; physiological characteristics

盐渍化地区林木稀少、土地荒芜、生态条件恶化,严重制约了当地农林经济和社会发展^[1]。如今人们越来越重视耐盐植物的资源调查、耐盐机制探索、耐盐植物筛选利用以及耐盐植物新品种培育的研究^[2]。石榴(*Punica granatum* L.)属石榴科(Punicaceae)石榴属(*Punica* L.)植物,其果实具有抗细菌、抗寄生、抗病毒和抗癌等作用,花具有很高的观赏价值,是集生态、经济、社会效益、观赏价值与保健功能于一身的优良果树。

石榴是海涂盐浸土地果树开发的先锋树种之一,可在含盐量 0.3% 左右土壤上正常生长^[3]。目前有关石榴的研究重点集中在新品种选育、果实组分分析、果色形成机理等方面^[4-7],而在石榴抗逆性方面研究工作还很薄弱。低温预处理可以提高种子抗盐能力已在草本植物中得到多方面的证实^[8-10],而在木本植物种子方面的相关研究很少,目前还没有关于低温预处理石榴种子耐盐萌发研究的报道。因此,本试验以山东枣庄主栽石榴品种‘峰城大青皮甜’种子为材料,研究了低温预处理石榴种子在盐胁迫下的萌发能力、保护酶活性、可溶性蛋白含量、相对电导率等指标响应特征,初步探讨石榴种子的抗盐机理,以期为生产实践提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试材料为 2013 年 9 月底在山东枣庄峰城采集的‘峰城大青皮甜’石榴。于 2014 年 1 月取出果实内的种子,用纱布反复搓洗干净备用。种子千粒重 28.53 g。

1.2 试验处理

1.2.1 低温预处理 2014 年 5 月 22 日开始进行

发芽试验。将种子用 3 层湿纱布包裹,置于 25 °C 培养室内进行催芽。催芽时,每天用清水冲洗种子,保证种子萌发所需水分。2 周后,选取籽粒饱满的种子 2 000 粒为一组,1800 粒试验,200 粒待用,共 4 组。用 0.5% HgCl₂ 对种子表面消毒 10 min,之后用清水反复冲洗 5 次。将种子放入覆盖湿纱布的 15 cm 培养皿中,置于 2~4 °C 低温下分别处理 0(未低温预处理,CK₁)、5、10 和 15 d 后用于 NaCl 胁迫处理。

1.2.2 NaCl 溶液处理 试验设置 0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5% 和 0.6% 等 6 种浓度 NaCl 溶液处理,以清水作为对照(CK₂),3 次重复,每重复 100 粒。在直径 15 cm 培养皿中置 2 层滤纸,先用少量相应浓度 NaCl 溶液浸润,将不同处理的石榴种子整齐摆放其中,培养温度为 25 °C。在人工培养箱中萌发 25 d 后取样测定相关指标。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 发芽能力指标 参照《国际种子检验规程》^[11]公式计算发芽率和发芽势:

$$\text{发芽率}(\%) = \frac{\text{种子发芽数}}{\text{供试种子数}} \times 100\%$$

$$\text{发芽势}(\%) = \frac{\text{发芽进程当日发芽最多种子发芽数}}{\text{供试种子数}} \times 100\%$$

1.3.2 幼苗形态指标 发芽试验结束后,在每个处理 3 次重复中分别随机抽取 10 株幼苗,测其上胚轴和胚根长。

1.3.3 幼苗抗氧化酶活性和渗透调节物质含量

取各处理已完全展开叶片,立即带回实验室进行超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性,以及脯氨酸和可溶性蛋白含量的测定。SOD 活性的测定采用 NBT 氧化还原法;POD 活性的测定采用愈创木酚法,以上指标的测定

方法均参照《植物生理生化实验原理和技术》^[12]。CAT 活性测定采用紫外吸收法;脯氨酸含量的测定用茚三酮法;可溶性蛋白含量测定用考马斯亮蓝 G-250 染色法,均参照《植物生理实验指导》^[13]。所有指标测定均重复 3 次,最终结果为试验平均值。

1.3.4 细胞膜透性 采用电解质外渗电导法测定^[14]。称取 0.3 g 发芽种子,冲洗干净,加入 10 mL 去离子水,充分振荡后静置 24 h,采用 DDS211 型电导率仪测定其电导率初值 L_1 ,沸水浴 10 min 冷却至室温,测其电导率终值 L_2 ,计算相对电导率,5 次重复。

相对电导率(L)= $(L_1 - \text{蒸馏水电导率}) / (L_2 - \text{蒸馏水电导率}) \times 100\%$

1.4 数据处理

利用 Excel 2007 计算各指标的平均值,并绘制图表,采用 SAS 统计软件中的 ANOVA 方法对测量数据进行方差分析,用 Duncan 法进行多重比较(LSD)^[15]。

2 结果与分析

2.1 低温预处理对盐胁迫下石榴种子萌发的影响

由表 1 可知,随着盐浓度升高,各低温预处理石榴种子的发芽率和发芽势均表现出先升高后降低的趋势,并在 0.1% 盐浓度下达到最高值。在 0.1% 盐浓度下,石榴种子可以正常萌发,除低温处理 5 d 的发芽势和发芽率与对照(CK_2)相近外,其它处理均显著高于 CK_2 ;在 0.2% 盐浓度下,石榴种子发芽率除低温处理 5 d 外均显著低于 CK_2 ,而发芽势均与对照(CK_2)差异不显著;但当盐浓度高于 0.3% 时,各盐胁迫处理的发芽率和发芽势显著低于 CK_2 。在

相同浓度盐胁迫下,各低温预处理石榴种子的发芽率和发芽势也随着处理间延长先升后降,并均在处理 5 d 时达到最大。低温处理 5 d 时,各盐分梯度下种子萌发率和发芽势均高于相应未低温处理对照(CK_1);低温预处理 10 d 时,盐浓度低于 0.4% 处理的发芽率和发芽势也高于相应 CK_1 ,其余均低于相应对照,但未达到显著水平;低温预处理 15 d 时,各处理种子的发芽率均低于相应 CK_1 ,当盐浓度低于 0.3% 时种子发芽势也低于 CK_1 。可见,低温处理 5 和 10 d 能显著提高石榴种子发芽率和发芽势,并以低温处理 5 d 效果较好,长时间低温处理则抑制了种子萌发;石榴种子可以在盐浓度低于 0.2% 条件下正常萌发,当盐浓度高于 0.2% 时萌发受到抑制,且随着盐浓度升高抑制作用越显著;石榴种子在适当的低温处理(5 d)和低盐胁迫(0.1%)条件下的萌发力比单一低温或者低盐处理更强。

2.2 低温预处理对盐胁迫下石榴幼苗形态的影响

表 2 显示,低温预处理 5 d 时,石榴幼苗胚根、胚轴长度均显著大于其它处理($P < 0.05$);低温预处理 10 d 石榴幼苗胚根、胚轴长度稍小于 CK_1 ;低温预处理 15 d 时,幼苗生长受到抑制,显著小于 CK_1 。不同盐浓度处理种子对幼苗胚根、胚轴生长影响差异显著($P < 0.05$)。其中,幼苗胚根、胚轴长度在盐浓度为 0.1% 时显著大于对照 CK_2 ,在浓度为 0.2% 时稍小于对照 CK_2 ,而当高于 0.3% 时显著小于对照 CK_2 。另外,种子萌发最重要的是获得壮苗,根冠比的大小是壮苗的重要标志,根冠比越大,幼苗越壮,反之越弱。表 2 结果表明低温处理 5 d、0.1% 的低盐浓度时石榴幼苗根冠比最大,幼苗健壮。可见,低温处理和低盐胁迫对石榴幼苗生长有

表 1 低温预处理对盐胁迫下石榴种子发芽影响

Table 1 Effect of pre-chilling treatment on germination of black *Punica granatum* seeds under salt stress

指标 Index	低温处理时间 Pre-chilling time/d	盐处理浓度 Salt treatment concentration/%						
		0(CK_2)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6
发芽率 Germination rate/%	0(CK_1)	63.3±5.3Cab	72.7±6.1Aa	59.3±5.7Bb	45.0±3.4Ac	23.0±3.4Ad	4.7±1.2ABe	2.0±0.8Af
	5	83.3±6.4Aa	81.0±6.8Aa	76.0±6.4Aa	55.7±4.7Ab	28.3±3.2Ac	8.0±1.7Ad	5.0±1.4Ad
	10	74.3±5.8Bab	79.0±5.9Aa	71.3±7.1Ab	52.7±4.2Ac	14.3±2.1Bd	3.0±0.9ABe	1.3±0.4Af
	15	48.3±5.1Dab	50.7±4.7Ba	42.7±5.3Cb	23.7±3.2Bc	6.3±1.2Cd	2.0±0.8Be	1.0±0.1Ae
发芽势 Germination energy/%	0(CK_1)	13.3±2.9Aa	14.7±3.2Ba	12.7±3.3Ba	6.0±2.4Ab	2.0±0.9Ac	1.0±0.3Acd	0.7±0.2Ad
	5	15.0±3.5Ab	19.7±4.6Aa	15.7±2.9Ab	9.0±2.7Ac	3.7±1.2Ad	1.7±0.8Ad	1.0±0.3Af
	10	13.7±3.1Aab	15.0±2.9Ba	10.0±2.2Cbc	8.3±2.4Ac	2.3±0.9Ad	0.7±0.2Ae	0.3±0.1Ae
	15	9.7±2.5Ba	9.7±2.7Ca	7.7±1.8Da	4.7±0.9Ab	2.0±0.6Ac	1.3±0.6Acd	0.7±0.1Ad

注:同行中小写字母表示盐胁迫处理间在 0.05 水平上差异显著;同列中大写字母表示低温预处理间在 0.05 水平上差异显著;下同。

Note: Values in each row with different lower case letters are significantly different among salt treatments at 0.05 level in the same pre-chilling time, while values in each column with different uppercase letters are significantly different among pre-chilling times at 0.05 level in the same slat treatment; The same as below.

促进作用,但长时间的低温和高浓度盐处理对幼苗会造成伤害;幼苗在低温处理 5 d 和 0.1% 盐浓度下的生长比单独低温处理或低盐胁迫条件下更快,即适当低温处理可以促进石榴种子在低盐条件下健壮生长。

2.3 低温预处理对盐胁迫下石榴幼苗保护酶活性的影响

2.3.1 SOD 活性

由表 3 可知,在盐胁迫下,石榴幼苗 SOD 活性随着盐浓度的升高呈先升高后下降的趋势,且各处理幼苗 SOD 活性均在盐浓度为 0.3% 时达到最大值,说明石榴幼苗在低于 0.3% 盐浓度下可以通过提高 SOD 活性来适应外界盐分变化,但当盐浓度高于 0.3% 时 SOD 活性受到抑制,从而造成盐害。同时,低温处理 5 和 10 d 不同程度

地提高了幼苗 SOD 活性,增强了石榴种子抗盐萌发能力,且在低温处理 5 d 时与其它处理间差异显著;低温处理 15 d 时,幼苗 SOD 活性显著低于对照 CK₁,说明长时间的低温处理对石榴幼苗生长会造成伤害。

2.3.2 POD 活性

各低温预处理石榴幼苗 POD 活性均随盐浓度的升高呈先升高后下降变化趋势,并在盐浓度 0.3% 时达到最大;在无盐胁迫条件下(CK₂),除低温处理 15 d 幼苗 POD 活性显著低于其它低温处理外,而其它低温处理间无显著性差异;但在不同浓度盐胁迫下,幼苗 POD 活性在低温处理 5 d 均显著大于其它处理,在低温处理 10 d 与对照 CK₁ 差异不显著,而在低温处理 15 d 时显著低于低温对照。说明在盐胁迫环境中,低温处理 5 d 能显著

表 2 低温预处理对盐胁迫下幼苗生长的影响

Table 2 Effect of pre-chilling treatment on seedling growth under salt stress

指标 Index	低温处理时间 Pre-chilling time/d	盐处理浓度 Salt treatment concentration/%						
		0(CK ₂)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6
胚根长 Radicle/cm	0(CK ₁)	4.9±0.9ABb	5.3±1.2Ba	4.9±0.9Ab	3.4±0.5Bc	2.4±0.3Ad	1.2±0.4Ae	0.8±0.1Bf
	5	5.1±1.1Ab	5.6±1.4Aa	5.0±1.2Ab	4.0±0.6Ac	2.4±0.6Ad	1.4±0.2Ae	1.0±0.3Af
	10	4.8±0.8Bb	5.1±0.9Ba	4.8±1.1Ab	3.4±0.8Bc	2.2±0.4Ad	1.2±0.3Ae	0.9±0.2ABf
	15	4.2±0.8Cb	4.7±0.8Ca	4.1±0.7Bb	2.8±0.6Cc	1.7±0.4Bd	1.1±0.2Ae	0.7±0.2Bf
胚轴长 Hypocotyl/cm	0(CK ₁)	4.5±1.1Ba	4.2±0.9Ab	3.4±0.8ABc	2.6±0.4ABd	1.8±0.6Be	1.2±0.4ABf	0.7±0.2ABg
	5	4.8±0.8Aa	4.3±1.1Ab	3.6±1.2Ac	2.8±0.9Ad	2.2±0.5Ae	1.5±0.5Af	0.8±0.2Ag
	10	4.5±1.2Ba	4.1±0.7Ab	3.3±0.6Bc	2.4±0.5Bd	1.8±0.8Be	1.1±0.3Bf	0.4±0.1Bg
	15	3.9±0.9Ca	3.4±0.6Bb	2.6±0.4Cc	1.8±0.6Cd	1.3±0.3Ce	1.0±0.3Bf	0.4±0.1Bg
根冠比 Shoot ratio	0(CK ₁)	0.44	0.51	0.46	0.37	0.32	0.29	—
	5	0.46	0.55	0.49	0.36	0.33	0.28	—
	10	0.45	0.52	0.46	0.37	0.32	0.29	—
	15	0.42	0.49	0.47	0.35	0.33	0.28	—

表 3 低温预处理对盐胁迫下幼苗保护酶活性的影响

Table 3 Effect of pre-chilling treatment on SOD, POD and CAT activities under salt stress

保护酶 Protective enzyme	低温处理时间 Pre-chilling time/d	盐处理浓度 Salt treatment concentration/%						
		0(CK ₂)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	
SOD /(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	0(CK ₁)	43.4±5.6Ae	55.2±3.7BCd	78.3±6.8Bc	159.9±13.3Ba	138.6±12.4Bb	64.4±5.7BCd	
	5	45.7±4.9Ae	65.8±4.9Ad	95.2±9.2Ac	185.7±12.7Aa	157.0±13.1Ab	75.0±6.6Ad	
	10	44.7±6.7Af	58.2±5.1Be	77.7±8.4Bc	150.2±13.5BCa	130.4±14.7Bb	67.4±4.8Bd	
	15	39.0±2.6Bf	49.7±3.4Ce	71.9±6.6Bc	133.3±11.2Ca	115.1±13.6Cb	58.9±5.2Cd	
POD /(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	0(CK ₁)	22.5±2.4Af	30.6±1.7eB	48.4±2.7Bd	76.9±6.6Ba	64.8±5.2Bb	55.5±6.2Bc	
	5	23.3±2.6Af	36.4±2.4Ae	56.3±5.4Ad	87.9±5.9Aa	72.6±4.8Ab	61.4±5.6Ac	
	10	22.1±1.8Af	31.0±3.1Be	47.8±3.4Bd	74.3±6.2Ba	64.1±3.7Bb	55.9±3.7Bc	
	15	17.9±1.9Be	27.7±2.4Cd	38.2±3.2Cc	66.7±7.1Ca	54.6±6.4Cb	52.6±4.4Cb	
CAT /(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	0(CK ₁)	19.3±3.2Be	38.5±4.2Bd	71.4±6.6Bc	122.2±10.5Ca	106.3±12.3Bb	100.5±9.8Bb	
	5	23.6±4.1Ae	45.5±2.1Ad	81.3±8.2Ac	136.7±12.3Aa	127.0±11.4Ab	121.0±12.4Ab	
	10	19.7±2.6Be	40.2±3.2Bd	72.1±5.8Bc	127.4±11.8Ba	109.4±12.4Bb	108.8±13.3Bb	
	15	18.3±2.1Be	35.6±3.7Cd	65.4±6.4Bc	115.9±12.4Da	105.1±10.2Bb	97.4±8.9Bb	

增强幼苗 POD 活性,但长时间的低温处理对石榴幼苗生长反而会造成伤害。

2.3.3 CAT 活性 在相同低温预处理时间内,石榴幼苗 CAT 活性变化趋势与 SOD、POD 相同,即随着盐浓度的升高而先升高后下降,当盐浓度0.3%时达到最大。低温处理 5 d 石榴幼苗 CAT 活性在各盐浓度处理下均显著大于其它低温处理;低温处理 10 d 幼苗 CAT 活性除在 0.3%盐浓度下显著高于 CK₁ 外,在其余盐浓度下均与 CK₁ 无显著差异;低温处理 15 d 幼苗 CAT 活性在 0.1%和 0.3%盐浓度下显著低于对照 CK₁,在其它盐浓度下均与 CK₁ 差异不显著。

以上结果表明适当时间的低温处理(5 d)可显著提高石榴幼苗的保护酶活性,但长时间的低温处理(15 d)则降低了幼苗的保护酶活性;石榴幼苗在外界盐浓度为低于 0.3%时可以通过保护酶系统调节适应盐胁迫环境,而当盐浓度高于 0.3%时超出了其保护酶系统的调节范围,从而发生盐害。

2.4 低温预处理对盐胁迫下石榴幼苗可溶性蛋白和脯氨酸含量的影响

在盐胁迫下,植物体内的可溶性蛋白含量增加,可能有助于提高植物对盐胁迫适应能力的逆境蛋白合成^[16]。由表 4 知,随着盐浓度的升高,各低温处理石榴幼苗可溶性蛋白含量逐渐增高,并在不同浓

度盐处理间差异显著($P<0.05$),且大多显著大于对照 CK₂。随预处理时间延长,各盐浓度处理石榴幼苗的可溶性蛋白含量先降后升,其在低温处理 5 d 时比 CK₁ 不同程度降低,而在低温处理 10 d 和 15 d 时却不同程度地增加,但大多未达到显著水平。即长时间的低温预处理可以提高石榴幼苗可溶性蛋白的合成。

同时,随盐浓度的升高,各低温预处理石榴幼苗间脯氨酸含量逐渐升高,但盐浓度低于 0.2%的各处理间差异不显著,而当盐浓度高于 0.3%时显著增加,尤其在 0.4%和 0.5%盐浓度下剧增。随着低温预处理时间的延长,各盐浓度处理石榴幼苗表现出先降后升的趋势,且盐浓度越高这种趋势越明显;各低温处理间脯氨酸含量在低盐浓度胁迫下差异不显著,当盐浓度高于 0.3%时差异达到显著水平($P<0.05$)。说明盐胁迫和低温刺激促进了石榴幼苗自身脯氨酸的合成,且盐浓度越高、低温处理时间越长脯氨酸在石榴幼苗体内积累越多。

2.5 低温预处理对盐胁迫下石榴幼苗电导率的影响

植物膜系统会在盐胁迫下受到影响,对盐敏感的植物膜系统先遭到破坏^[17]。由表 5 知,各低温处理石榴幼苗电导率随着盐胁迫浓度的升高逐渐增加,其在 0.1%和 0.2%盐浓度之间无显著差异外,而在其它处理间差异显著($P<0.05$),尤其当盐浓度

表 4 低温预处理对盐胁迫下对幼苗可溶性蛋白和脯氨酸的影响

Table 4 Effect of pre-chilling treatment on soluble protein contents and proline under salt stress

指标 Index	低温处理时间 Pre-chilling time/d	盐处理浓度 Salt treatment concentration/%					
		0(CK ₂)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
可溶性蛋白 Soluble protein content/(mg·g ⁻¹)	0(CK ₁)	2 640±123ABc	3 066±173BCc	4 070±321Bc	5 119±591Abc	9 184±617ABab	16 235±559ABa
	5	2 360±136Be	2 951±168Ce	3 855±336Bd	4 696±625Bc	8 736±563Bb	15 272±624Ba
	10	2 585±144Ce	3 123±216Be	4 158±401Bd	5 200±421Ac	9 250±489Ab	16 701±458Aa
	15	2 802±109Af	3 327±201Ae	4 678±511Ad	5 471±368Ac	9 522±369Ab	17 792±568Aa
脯氨酸 Proline content /(mg·g ⁻¹)	0(CK ₁)	1.36±0.1Ad	1.40±0.2ABd	1.59±0.3Ad	1.98±0.3ABc	4.56±0.6Cb	10.34±1.6BCa
	5	1.32±0.2Ad	1.39±0.3Ad	1.49±0.2Bd	1.88±0.3Bc	4.37±0.7Cb	9.38±0.7Ca
	10	1.33±0.2Ad	1.40±0.1ABd	1.52±0.3ABd	1.91±0.3Bc	5.02±0.6Bb	11.59±1.4ABa
	15	1.36±0.2Ad	1.41±0.2Ad	1.56±0.3Ad	2.05±0.4Ac	5.40±0.5Ab	13.07±1.2Aa

表 5 低温预处理对盐胁迫下对幼苗电导率的影响

Table 5 Effect of pre-chilling treatment on conductivity under salt stress

低温处理时间 Pre-chilling time/d	盐处理浓度 Salt treatment concentration/%					
	0(CK ₂)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
0(CK ₁)	1.00ABe	1.14Ade	1.22Ad	1.45Bc	2.02Bb	2.86ABa
5	0.83Ce	1.11Ad	1.20Ad	1.42Bc	1.99Bb	2.69Ba
10	0.95BCe	1.18Ad	1.21Ad	1.47Bc	2.33Ab	3.03Aa
15	1.11Ae	1.26Ad	1.23Ad	1.51Ac	2.43Ab	3.13Aa

为 0.5% 时,其相对电导率约为对照(CK₂)的 3 倍,说明石榴幼苗膜系统在高盐浓度下已受到严重破坏。同时,各盐处理石榴幼苗电导率随低温处理时间延长先降低后升高,并在预处理 5 d 时达到最低值。在无盐胁迫下(CK₂),低温预处理 5 d 幼苗相对电导率均显著小于对照(CK₁),而其余低温处理与 CK₁ 均无显著差异;在 0.1% 和 0.2% 盐浓度时,不同低温处理间相对电导率差异不显著;当盐浓度高于 0.3% 时,仅低温处理 15 d 相对电导率显著高于其余处理,其它处理间差异不显著。可见,适当时间的低温处理能增加石榴幼苗抗盐力,但长时间的低温处理抑制幼苗在盐环境正常生长。

3 讨 论

试验结果表明,适当时间低温预处理(5 d)和低盐胁迫(0.1%)可以提高石榴种子发芽率、发芽势和幼苗根冠比,有利于壮苗形成;但长时间的低温处理和高浓度盐胁迫却降低种子的发芽率、发芽势和根冠比,抑制幼苗生长。另外,低温处理 5 d 石榴种子在 0.2% 盐浓度下可以正常萌发,说明低温预处理可以提高石榴种子抗盐力,0.2% 盐浓度可以作为石榴种子抗盐萌发的临界点。据报道,石榴树对土壤盐浸化有较好的适应性,但含盐量超过 0.3% 时会导致石榴树势减弱、黄化、早衰、发生冻害严重等现象,含盐量超过 0.4% 时则会导致根系、枝条韧皮部和木质部以及叶片发生盐害死伤^[18]。可见,本研究结果与之相似,其可能原因是石榴种子能在低盐浓度中萌发,随着幼树生长,其抗盐能力也逐渐增强,但超过一定浓度时也会对树体造成伤害。

同时,本研究发现盐胁迫下低温预处理石榴幼苗保护酶(SOD、POD、CAT)活性均呈先上升后下降的趋势,当盐浓度为 0.3% 时达到最大。即石榴幼苗在低盐胁迫下可通过抗氧化酶系统 SOD、POD 和 CAT 活性增强来清除过多自由基,而高盐胁迫使体内代谢趋于紊乱,体内自由基急剧升高,这在李属(*Prunus*)^[19]、柽柳(*Tamarix chinensis* Lour.)^[20]

等植物中也得到验证。同时,石榴在盐逆境萌发过程中,低温处理 5 d 幼苗的 SOD、POD 和 CAT 活性均比对照有不同程度提高,说明低温处理石榴种子可以提高石榴幼苗在盐环境的适生能力,这一结论与刺槐(*Robinia pseudoacacia* L.)种子经低温处理能抗盐萌发结论相同^[21]。

另外,植物在失水时产生的一些渗透调节物质具有脱水保护功能^[22-25],本试验结果表明随着盐浓度的升高,石榴幼苗的渗透调节物质(可溶性蛋白和脯氨酸)含量也逐渐增加。据报道,大豆(*Glycine max*)品种 Clark 和 Forrest 的耐盐性与叶片可溶性蛋白、脯氨酸的积累有关^[26];黑麦草在低温和盐渍胁迫之间存在“交叉适应”现象,低温处理 3~5 d 显著提高了种子萌发期的抗盐能力^[27];低温诱导小麦种子可以促进种子内源激素合成,从而提高种子抗盐萌发性^[28]。本试验表明长时间的低温处理可以提高石榴幼苗渗透调节物质的合成,而且随着盐浓度的升高它们在体内逐渐累积。未经盐胁迫石榴幼苗的相对电导率在低温处理间差异显著,并在低温预处理 5 d 时显著低于常温对照,说明低温预处理石榴种子可以提高幼苗抗盐能力。

综上所述,石榴种子萌发、幼苗生长及生理生化特性与低温处理、盐胁迫关系密切,适当的低温处理及低盐环境可促进种子萌发。在低盐环境下,低温处理石榴种子幼苗能通过调整自身生长增强幼苗植株的渗透调节能力,保证植株正常生长所需水分,同时可溶性蛋白和脯氨酸含量的增加,保证幼苗自身保护酶的合成,维持正常的细胞代谢活性;另外,通过降低细胞膜脂过氧化程度,保证细胞膜的完整性等来提高其逆境适应能力,从而有效降低膜脂过氧化对植株的伤害,表现出较强的抗盐性。本研究表明,石榴种子萌发前经适度时间的低温预处理,有利于石榴种子在盐胁迫下的萌发和幼苗生长,且低温处理 5 d 在 0.1% 盐浓度环境中有利于石榴壮苗形成,是生产实践中可以应用的技术措施。

参考文献:

- [1] YIN J D(尹建道), GONG H ZH(龚洪柱). Earlier stage study of forest exploitation and utilization on salinized soil in Shandong Province—analysis of soil salt composition and salt harmfulness to plants[J]. *Journal of Northeast Forestry University*(东北林业大学学报), 1998, 26(1): 29—33(in Chinese).
- [2] SUN SH W(孙守文), LI H(李 宏), ZHENG CH H(郑朝晖), et al. Study on salt tolerance of six main tree species in Xinjiang and their photosynthetic characteristics under salt stress[J]. *Journal of Southwest Forestry University*(西南林业大学学报), 2011, 31(5): 10—14

- (in Chinese).
- [3] WANG L J(汪良驹), MA K(马 凯), JIANG W B(姜卫兵), *et al.* Study on contents of sodium and potassium ions of pomegranate and peach plants under sodium chloride stress and their salt tolerance[J]. *Acta Horticulturae*(园艺学报), 1995, **22**(4): 336—340(in Chinese).
- [4] LANSKY E P, NEWMAN R A. *Punica granatum* (Pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2007, **109**(3): 177—206.
- [5] AVIRAM M, VOLKOVA N, COLEMAN R, *et al.* Pomegranate phenolics from the peels, arils, and flowers are antiatherogenic; studies *in vivo* in atherosclerotic apolipoprotein e—deficient(E 0) mice and *in vitro* in cultured macrophages and lipoproteins[J]. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2008, **56**(4): 1 148—1 157.
- [6] MEHTA R, LANSKY E P. Breast cancer chemopreventive properties of pomegranate fruit extracts in a mouse mammary organ culture [J]. *Eur. J. Cancer Prev.*, 2004, **13**(4): 345—348.
- [7] LANSKY E P, HARRISON G, FROOM P. Pomegranate pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer invasion across Matrigel[J]. *Invest New Drugs*, 2005, **23**(2): 121—122.
- [8] IRWIN A U. Halophyte seed germination[J]. *The Botanical Review*, 1978, **44**: 233—264.
- [9] CHAUDHURI I I, WLEBE H H. Influence of calcium pretreatment on wheat germination on salt media[J]. *Plant and Soil*, 1968, **28**: 208—216.
- [10] ZAI X M(宰学明), WU G R(吴国荣), LU CH M(陆长梅), *et al.* The effects of pre-chilling on vigour index and active oxygen metabolism of soybean seeds[J]. *Soybean Science*(大豆科学), 2001, **20**(3): 163—166(in Chinese).
- [11] 国际种子检验协会(ISTA). 国际种子检验规程[M]. 北京:北京农业大学出版社, 1985: 54—57.
- [12] 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: 195—197.
- [13] 张治安. 植物生理实验指导[M]. 北京:中国农业科学出版社, 2004: 18—20.
- [14] 赵世杰, 李德全. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京:科技出版社, 1999: 305—306.
- [15] 黄少伟, 谢维辉. 使用 SAS 编程与林业实验数据分析[M]. 广州:华南理工大学出版社, 2001: 46—53.
- [16] WU L Y(吴丽云), CAO B H(曹帮华). Germination characteristics of *Fraxinus velutina* and *Melia azedarach* seeds in saline land[J]. *Chinese Bulletin of Botany*(植物学通报). 2005, **22**(6): 668—672(in Chinese).
- [17] GUAN SH Y(关世英), SU W A(苏维埃). Approach of mechanism of plant chilling resistance related with phosphatidyl-glycerol[J]. *Plant Physiology Communications*(植物生理学通讯), 1995, **31**(3): 167—173(in Chinese).
- [18] 曹尚银, 侯乐峰. 中国果树志——石榴卷[M]. 北京:中国林业出版社, 2013: 80—85.
- [19] HU X L(胡晓立), LI Y H(李彦慧), CHEN D L(陈东亮). Physiological responses of three colored-leaf species of *Prunus* under NaCl stress[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2012, **32**(2): 370—376(in Chinese).
- [20] ZHU J F(朱金方), XIA J B(夏江宝), LU ZH H(陆兆华). Growth, physiological and biochemical characteristics of *Tamarix chinensis* seedlings under salt-drought intercross stress[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2012, **32**(1): 124—130(in Chinese).
- [21] CAO B H(曹帮华), ZHAI M P(翟明普), WU L Y(吴丽云). Effects of pre-chilling on germination of *Robinia pseudoacacia* under salt stress[J]. *Journal of Beijing Forestry University*(北京林业大学学报), 2005, **27**(4): 39—42(in Chinese).
- [22] HUSAINI A M, ABDIN M Z. Development of transgenic strawberry(*Fragaria x ananassa* Duch.) plants tolerant to salt stress[J]. *Plant Sci.*, 2008, **174**: 446—455.
- [23] LI H Y(李洪燕), ZHENG Q S(郑青松), LIU ZH P(刘兆普). Effects of various concentration of seawater on the growth and physiological characteristics of *Lactuca indica* seedlings[J]. *Chinese Bulletin of Botany*(植物学报), 2010, **45**(1): 73—78(in Chinese).
- [24] LIU B X(刘炳响), WANG ZH G(王志刚), LIANG H Y(梁海永), *et al.* Effects of salt stress on physiological characters and salt-tolerance of *Ulmus pumila* in different habitats[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*(应用生态学报), 2012, **23**(6): 1 481—1 489(in Chinese).
- [25] WANG C(王 聪), ZHU Y L(朱月林), YNAG L F(杨立飞), *et al.* Effects of NaCl stress on polyamines metabolism in vegetable soybean[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*(应用生态学报), 2011, **22**(11): 2 883—2 893(in Chinese).
- [26] ELSAMAD H M, SHADDAD A K. Salt tolerance of soybean cultivars[J]. *Biologia Plantarum*, 1997, **39**(2): 263—269.
- [27] SONG X F(宋晓芳), CAO SH H(曹社会), CHEN X L(陈秀丽). Cross-adptation of perennial ryegrass in germination stage to pre-chilling and salt stress[J]. *Journal of Northwest A&F University*(Nat. Sci. Edi.) (西北农林科技大学学报·自然科学版), 2013, **41**(11): 185—190(in Chinese).
- [28] IQBAL M, ASHRAF M. Changes in hormonal balance; a possible mechanism of pre-sowing chilling-induced salt tolerance in spring wheat [J]. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 2010, **196**(6): 440—454.

(编辑:裴阿卫)