

# NaHCO<sub>3</sub> 胁迫对三色堇生长及 抗逆生理特性的影响

刘小娥, 苏世平\*

(甘肃农业大学 林学院, 兰州 730070)

**摘要:**以三色堇实生苗为材料, 设置不同浓度的 NaHCO<sub>3</sub> [0(CK)、25、50、100、150 和 200 mmol · L<sup>-1</sup>] 处理, 在胁迫后第 7 天和第 14 天分别测定各处理幼苗叶片的渗透调节物质含量、抗氧化酶活性、叶绿素含量、丙二醛(MDA) 含量以及株高生长量, 探讨三色堇对 NaHCO<sub>3</sub> 胁迫的生理响应机制。结果表明: (1) 三色堇株高生长量在 NaHCO<sub>3</sub> 浓度小于等于 50 mmol · L<sup>-1</sup> 时较 CK 显著增加, 在 100 mmol · L<sup>-1</sup> 时与 CK 相近, 在大于 100 mmol · L<sup>-1</sup> 时较 CK 显著降低。 (2) 各浓度处理三色堇叶片可溶性糖(SS)、可溶性蛋白(SP)、游离脯氨酸(Pro) 含量在胁迫第 7 日均显著高于 CK; 而胁迫第 14 天时, 各浓度处理的 SS 含量、50 mmol · L<sup>-1</sup> 处理的 SP 含量以及 150、200 mmol · L<sup>-1</sup> 处理的 Pro 含量仍显著高于 CK。 (3) 胁迫第 7 天时, 三色堇叶片超氧化物歧化酶(SOD) 活性在各胁迫浓度下较 CK 均显著增强, 但其过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT) 活性均无显著变化; 胁迫第 14 天时, 各浓度处理的 CAT 活性、50 mmol · L<sup>-1</sup> 处理的 POD 活性以及 100、150 mmol · L<sup>-1</sup> 处理的 SOD 活性均显著高于相应 CK。 (4) 在 NaHCO<sub>3</sub> 胁迫过程中, 三色堇叶片 MDA 含量均随着胁迫浓度增加而逐渐增加, 且均显著高于 CK。 (5) 三色堇叶片的叶绿素含量在胁迫第 7 天时无显著变化, 胁迫第 14 天时也仅在 150 或者 200 mmol · L<sup>-1</sup> 处理下较 CK 显著降低。研究发现, 三色堇植株能耐受小于等于 100 mmol · L<sup>-1</sup> NaHCO<sub>3</sub> 胁迫, NaHCO<sub>3</sub> 对株高生长有低浓度促进、高浓度抑制的剂量效应; 三色堇在 NaHCO<sub>3</sub> 胁迫期间能够通过增加渗透调节物质含量、增强抗氧化酶活性来缓解胁迫诱导的过氧化伤害, 一定程度上提高了幼苗的耐受能力。

**关键词:**三色堇; NaHCO<sub>3</sub> 胁迫; 生长量; 渗透调节物质; 抗氧化酶活性; 叶绿素含量

中图分类号: Q945.78

文献标志码: A

## Growth and Physiological Characteristics of Stress Resistance in Seedling of *Viola tricolor* under NaHCO<sub>3</sub> Stress

LIU Xiaoe, SU Shiping\*

(College of Forestry, Gansu Agricultural University, Lanzhou, 730070, China)

**Abstract:** In order to explore the growth and physiological characteristics of stress resistance in seedling of *Viola tricolor* under NaHCO<sub>3</sub> stress, we treated the seedlings of *V. tricolor* with different concentrations of NaHCO<sub>3</sub> [0 mmol · L<sup>-1</sup> (CK), 25 mmol · L<sup>-1</sup>, 50 mmol · L<sup>-1</sup>, 100 mmol · L<sup>-1</sup>, 150 mmol · L<sup>-1</sup>, 200 mmol · L<sup>-1</sup>], and determined the height growth, osmotic regulation substances, antioxidant enzyme activity, photosynthetic pigment content, and malondialdehyde (MDA) content on the 7th day and 14th

收稿日期: 2022-01-19; 修改稿收到日期: 2022-06-24

基金项目: 国家自然科学基金(32060335); 甘肃农业大学学科建设基金(GAU-XKJS-2018-102); 对发展中国家常规性科技援助项目(KY202002011); 甘肃省自然科学基金(21JR7RA814)

作者简介: 刘小娥(1981-), 女, 讲师, 博士, 研究方向为土壤生态学。E-mail: liuxiaoe@126.com

\* 通信作者: 苏世平, 男, 副教授, 博士, 研究方向为水土保持与荒漠化防治。E-mail: susp008@163.com

day. The results showed that: (1) compared with CK, the height growth of *V. tricolor* was significantly increased when  $\text{NaHCO}_3$  concentration was less than  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , and close to CK when  $\text{NaHCO}_3$  concentration was  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , but significantly decreased when  $\text{NaHCO}_3$  concentration was higher than  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ . (2) On the 7th day, the contents of soluble sugar (SS), soluble protein (SP) and free proline (Pro) in *V. tricolor* leaves were significantly higher under  $\text{NaHCO}_3$  treatments than under CK, while on the 14th day, the contents of SS under all  $\text{NaHCO}_3$  concentration, SP under  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , Pro under  $150$  and  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  were significantly higher than under CK. (3) On the 7th day, the activity of superoxide dismutase (SOD) in *V. tricolor* leaves was significantly increased under  $\text{NaHCO}_3$  treatments than under CK, while the activities of peroxidase (POD) and catalase (CAT) had no significant change. On the 14th day, the contents of CAT under all  $\text{NaHCO}_3$  concentration, POD under  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , SOD under  $100$  and  $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  were significantly higher than under CK. (4) MDA content in *V. tricolor* leaves increased gradually with the increase of  $\text{NaHCO}_3$  concentration, and was significantly higher than CK. (5) Compared with CK, chlorophyll content in *V. tricolor* leaves did not change significantly on the 7th day, while decreased significantly under  $150$  or  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{NaHCO}_3$  concentration on the 14th day. The results indicated that *V. tricolor* could tolerate lower than  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{NaHCO}_3$  concentration and  $\text{NaHCO}_3$  had a dose effect of promoting plant height growth at low concentration and inhibiting plant height growth at high concentration. *V. tricolor* could alleviate the peroxidation damage induced by  $\text{NaHCO}_3$  stress through increasing the contents of osmotic regulatory substances and enhancing the activities of antioxidant enzymes, and thus improved the tolerance of *V. tricolor* seedlings.

**Key words:** *Viola tricolor*;  $\text{NaHCO}_3$  stress; plant growth; osmotic regulation substances; antioxidant enzyme activity; chlorophyll content

土壤盐渍化已经成为制约农业生产的主要问题之一,据报道中国目前有盐渍化土地面积约  $3\ 600$  万  $\text{hm}^2$  [1-2],占中国耕地面积的  $4.88\%$  [2-4],占全球盐碱地面积的  $3.6\%$ ,预计到 2050 年,  $50\%$  的可用耕地将面临盐渍化威胁 [4],因此,盐碱化土地的治理显得尤为重要。在农业生产中不合理的施肥和灌溉容易引起土地盐碱化,一方面,在灌溉过程中,由于水质不达标,导致水中的盐分随灌溉进入土壤;另一方面,由于不合理的灌溉,导致水分渗入土壤深层,将土壤深层残存的盐分溶解后通过土壤水分蒸发运移到土壤表层,加速了土壤盐渍化。

土壤盐渍化发生后,对植物造成盐胁迫,严重影响植物的正常生长发育。植物在遭受盐胁迫时,渗透调节物质[游离脯氨酸(Pro)、可溶性糖(SS)、可溶性蛋白(SP)]含量出现不同程度的升高 [5-8],抗氧化酶[过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)]活性在低盐浓度下呈升高趋势,随着盐浓度的增加而逐渐降低 [9-10],光合色素含量也随盐浓度的升高呈现出先升高后降低的趋势 [11];植物在盐胁迫时表现出生物产量降低,植株高生长减缓、根系生长受限,叶片变小,出现坏死斑点等受害症状 [12]。不同种类的盐胁迫,如酸性盐、中性盐和碱性盐,对植物的作用机理不同,同时植物对盐胁迫的耐受程度因盐分种类和盐分浓度的不同

而不同 [13]。中国西北地区土壤盐分主要以中性盐和碱性盐为主,而  $\text{NaHCO}_3$  是常见的碱性盐。植物在  $\text{NaHCO}_3$  胁迫下,由于  $\text{Na}^+$  的胁迫而导致细胞膜的结构和功能发生改变,细胞膜上原有的  $\text{Ca}^{2+}$  被  $\text{Na}^+$  取代,使细胞膜出现微小漏洞而引起原生质等产生渗漏,导致细胞内的离子种类和浓度发生变化,也会因盐分在细胞内大量积累引起原生质凝固,造成叶绿素破坏,光合作用速率急剧下降 [11,14],严重影响植物的生长发育。 $\text{NaHCO}_3$  胁迫除了引起离子毒害和渗透胁迫外,还有高的 pH 胁迫,pH 升高导致  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  等金属离子的有效性降低 [15],从而造成植株生理代谢障碍,导致生长受抑。

三色堇(*Viola tricolor*)隶属于堇菜科(Violaceae)堇菜属(*Viola*),为多年生草本,喜排水良好、肥沃、富含有机质的 pH 为  $5.4 \sim 7.4$  的弱酸性、中性壤土或粘壤土生长,常用作花坛、花池、花镜以及模纹花坛摆放的材料,同时三色堇全株可入药,具有散瘀、止咳、清热解毒的功能;也有研究表明,三色堇花朵富含黄酮、花青素和类胡萝卜素 [16],有较高的食用价值。因此,随着三色堇使用价值的不断扩展,其栽培面积将不断增加,三色堇的研究将会越来越多地受到关注。目前对三色堇的研究多集中在栽培、干旱胁迫 [17]、 $\text{NaCl}$  胁迫 [18-19]、高温胁迫 [20-22] 及重金

属胁迫<sup>[23]</sup>等方面。其中,在盐胁迫方面的研究,分别集中在渗透调节物质(Pro、SS、SP)、抗氧化酶(SOD、POD、CAT)、生长、膜脂过氧化(MDA)等方面,而关于三色堇在 NaHCO<sub>3</sub> 胁迫下生理生化方面的研究比较少见;同时,植物的耐盐性不是某一个指标或某一类指标的单独表现,而是众多生理生化特性综合作用的结果。因此,本研究以三色堇为研究材料,采用不同浓度 NaHCO<sub>3</sub> 处理,探讨在 NaHCO<sub>3</sub> 胁迫下三色堇植株渗透调节物质、抗氧化酶、光合色素、膜质过氧化产物以及生长方面的响应机理,以及三色堇对土壤 NaHCO<sub>3</sub> 胁迫的生理耐受限度,为今后盐碱地三色堇的栽培提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料培育

试验所用材料为种子播种获得的三色堇实生苗。将基质(丹麦生产)先用蒸馏水浸泡 48 h 后,倒掉水分,再用蒸馏水冲洗 3~5 次,以清除基质中可溶性离子;之后,用 50%(g/V)的可湿性多菌灵粉剂灭菌后密封 5 d,然后装入营养钵(直径 100 mm,高 150 mm)供播种用。播种时将基质用蒸馏水浇透,每钵播种 2 粒种子,等萌发后长出 2 片真叶时每营养钵保留 1 株幼苗;每隔 7 d 用霍格兰氏(Hoagland's)营养液浇灌 1 次,每盆 200 mL;待幼苗生长 45 d(5~6 片真叶)时进行 NaHCO<sub>3</sub> 胁迫处理,NaHCO<sub>3</sub> 处理过程中不再浇灌 Hoagland's 营养液。

### 1.2 试验处理

试验设置 0(蒸馏水浇灌,CK)、25、50、100、150、200 mmol·L<sup>-1</sup> 6 个浓度 NaHCO<sub>3</sub> 处理,每处理 3 次重复,每重复 30 株(钵),每 2 d 处理 1 次。为避免盐冲激效应,对浓度高于 25 mmol·L<sup>-1</sup> 的处理,每隔 1 d 用高一浓度处理液进行浇灌,直至到达设定浓度后,每隔 1 d 用目标浓度的处理液浇灌 1 次,每次灌溉量为基质持水量的 2 倍,确保有 2/3 的处理溶液流出,以此将前期集余盐分冲洗掉,以保证 NaHCO<sub>3</sub> 浓度恒定<sup>[24]</sup>,在全部处理达到目标浓度的一天定为盐胁迫处理的第 1 天。本研究中,蒸馏水 pH 值为 7.01,各浓度 NaHCO<sub>3</sub> 溶液 pH 值均为 8.30。灌溉浓度顺序见表 1。在处理的第 7 天和 14 天,每重复随机选择 10 株幼苗进行生长指标和生理指标测定。

### 1.3 测定指标及方法

**1.3.1 生理指标** 在每重复的 30 株三色堇幼苗中随机选择 10 株,每株选择大小一致的叶片 3 片,共

表 1 NaHCO<sub>3</sub> 处理浓度递增顺序  
Table 1 Concentration increasing order of NaHCO<sub>3</sub> treatment

处理浓度 Treatment concentration (mmol·L <sup>-1</sup> )	预处理 Pretreatment				处理 Treatment			
	0	0	0	0	1 d	7 d	1 d	7 d
0(CK)	0	0	0	0	0	0	0	0
25	0	25	25	25	25	25	25	25
50	0	25	50	50	50	50	50	50
100	0	25	50	100	100	100	100	100
150	0	25	50	100	150	150	150	150
200	0	25	50	100	150	200	200	200

30 片,装入液氮中,供生理指标测定,每个指标测定时,用直径为 0.5 cm 的打孔器进行每叶片取样,混合叶片样品作为测定样品。游离脯氨酸(Pro)含量采用磺基水杨酸提取法测定;可溶性糖(SS)含量采用蒽酮比色法测定;可溶性蛋白(SP)含量采用考马斯亮蓝染色法测定;过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定;超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑光化还原法测定;过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外吸收法测定,MDA 采用硫代巴比妥酸法测定,叶绿素含量采用酒精提取法测定。以上方法参考李合生<sup>[25]</sup>、高俊凤<sup>[26]</sup>的方法。

**1.3.2 株高生长量** 在处理的第 0 天、第 7 天、第 14 天测定三色堇幼苗茎基部至顶芽处的高度,分别记为 H<sub>0</sub>、H<sub>7</sub>、H<sub>14</sub>(cm),据此计算株高净生长量。

$$\Delta_i = H_i - H_0$$

式中, $\Delta_i$  为处理后第  $i$  天的株高净生长量, $H_0$  为处理第 0 天的株高, $H_i$  为处理后第  $i$  天的株高, $i = 7$  或 14。

### 1.4 数据处理与分析

采用 SPSS17.0 软件进行方差分析,各处理之间差异性检验采用 Duncan 检验,采用 Microsoft Excel 2010 软件作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 NaHCO<sub>3</sub> 胁迫对三色堇株高生长的影响

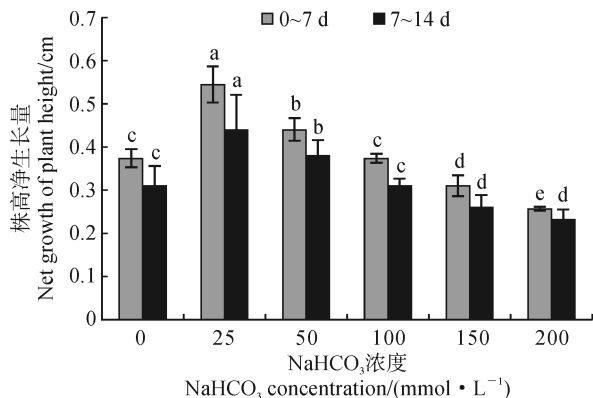
图 1 显示,随着 NaHCO<sub>3</sub> 处理浓度的增加,三色堇植株株高生长量呈现先增加后减少的趋势,并在 25 mmol·L<sup>-1</sup> 处理下达到最高值;株高生长量在处理浓度小于或等于 50 mmol·L<sup>-1</sup> 时高于对照(0 mmol·L<sup>-1</sup>),在其余处理浓度下均不同程度低于对照。其中,在 NaHCO<sub>3</sub> 处理 14 d 后,三色堇株高生长量在 25、50 mmol·L<sup>-1</sup> 处理下显著高于对

照(0.68 cm)45.59% ( $P < 0.05$ ), 在  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时与对照相等 ( $P > 0.05$ ), 在 150 和  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  分别比对照显著降低 16.18% 和 27.94% ( $P < 0.05$ )。可见, 三色堇植株对  $\text{NaHCO}_3$  胁迫具有一定的耐受性, 且有在低浓度 ( $\leq 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 下对高生长有显著促进作用, 高浓度 ( $> 100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 显著抑制的效应。

## 2.2 $\text{NaHCO}_3$ 胁迫对三色堇叶片渗透调节物质含量的影响

三色堇幼苗叶片的可溶性蛋白(SP)、可溶性糖(SS)和脯氨酸(Pro)含量经  $\text{NaHCO}_3$  处理后均高于对照。随着处理浓度的增加, 三色堇叶片 SP 含量在处理的第 7 天和第 14 天均呈先上升后下降的趋势, 并均在处理浓度为  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时达到最高值, 在此浓度处理第 7 天和第 14 天时分别比对照显著增加了 143.93% 和 140.86% ( $P < 0.05$ ); 各浓度处理第 14 天的 SP 含量在低浓度 ( $\leq 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 时高于第 7 天, 而在高浓度 ( $> 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 时低于第 7 天。在浓度为  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, SP 含量在处理第 7 天和第 14 天时分别比对照显著增加了 103.34% 和 58.15% ( $P < 0.05$ ) (图 2, A)。

随着  $\text{NaHCO}_3$  处理浓度的增加, 三色堇植株叶片 SS 和 Pro 含量在处理的第 7 天呈持续升高趋势, 在第 14 天呈先上升后降低的趋势。其中, 叶片 SS 含量在  $\text{NaHCO}_3$  胁迫处理第 14 天时以浓度为  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时含量最高, 比对照显著增加了 450.39%, 在浓度为  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时比对照显著



同一处理天数内不同小写字母表示各浓度处理之间在 0.05 水平差异显著 ( $P < 0.05$ )。下同

图 1  $\text{NaHCO}_3$  处理下三色堇幼苗株高净生长量

The different lowercases within the same day indicate significant difference among  $\text{NaHCO}_3$  concentration treatments at 0.05 level ( $P < 0.05$ ). The same as below

Fig. 1 Height net growth of *V. tricolor* seedlings under  $\text{NaHCO}_3$  treatments

增加了 338.91% ( $P < 0.05$ ); 除  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理以外, 叶片 SS 含量在各浓度处理第 14 天时显著高于第 7 天, 且均显著高于对照 ( $P < 0.05$ ) (图 2, B)。同时, 叶片 Pro 含量在  $\text{NaHCO}_3$  胁迫处理的第 14 天以浓度为  $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时最高, 比对照显著增加了 112.12%, 在浓度为  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时比对照增加了 89.26% ( $P < 0.05$ ); 随着处理时间的延长, 盐胁迫处理第 14 天时 Pro 含量均明显低于第 7 天的, 且盐胁迫浓度越高差异越大, 但两时段各浓度处理均高于对照 (图 2, C)。

## 2.3 $\text{NaHCO}_3$ 处理对三色堇叶片抗氧化酶活性的影响

$\text{NaHCO}_3$  在一定浓度范围内能显著提高三色堇幼苗叶片的抗氧化酶活性 (图 3)。随着  $\text{NaHCO}_3$  处理浓度的增加, 三色堇幼苗叶片 POD、SOD 和 CAT 活性在处理的第 7 天和第 14 天均呈先上升后降低的趋势, 且在处理第 14 天变化幅度较大。其中,

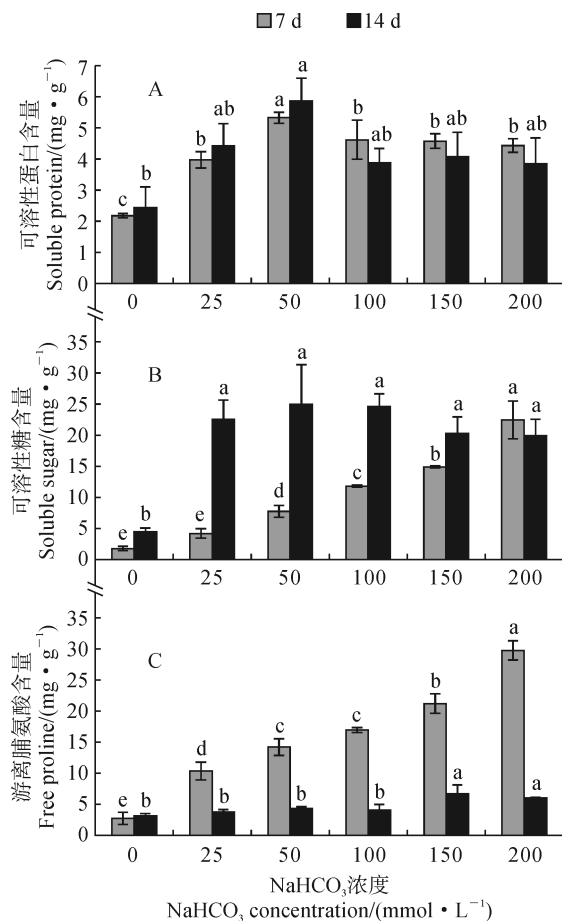


图 2  $\text{NaHCO}_3$  处理下三色堇幼苗叶片可溶性蛋白、可溶性糖和游离脯氨酸含量

Fig. 2 Soluble protein, soluble sugar and free proline contents in leaves of *V. tricolor* seedlings under  $\text{NaHCO}_3$  treatments



在处理的第 14 天,三色堇幼苗叶片 POD 活性在 NaHCO<sub>3</sub> 胁迫浓度为 50 mmol · L<sup>-1</sup> 时最高,比对照显著增加了 108.07% ( $P < 0.05$ );在盐浓度为 200 mmol · L<sup>-1</sup> 时比对照降低了 3.31%,但差异不显著 ( $P > 0.05$ );随着处理时间的延长,各浓度处理叶片 POD 活性在第 14 天均明显高于第 7 天(图 3,A)。

同时,在盐胁迫处理的第 14 天,三色堇叶片 SOD 活性在胁迫浓度为 100 mmol · L<sup>-1</sup> 时最高,比对照显著增加了 65.18% ( $P < 0.05$ );在胁迫浓度为 200 mmol · L<sup>-1</sup> 处理比对照降低了 1.75%,但差异不显著 ( $P > 0.05$ );随着胁迫处理时间的延长,除 100 mmol · L<sup>-1</sup> 处理外,其他浓度处理第 14 天的 SOD 活性均低于第 7 天(图 3,B)。

另外,在盐胁迫处理的第 14 天,三色堇叶片 CAT 活性胁迫浓度为 50 mmol · L<sup>-1</sup> 时最高,比对照显著增加了 156.96% ( $P < 0.05$ );在盐浓度为 200 mmol · L<sup>-1</sup> 时比对照显著升高了 74.84%;随着盐胁迫处理时间的延长,各浓度处理第 14 天时 CAT

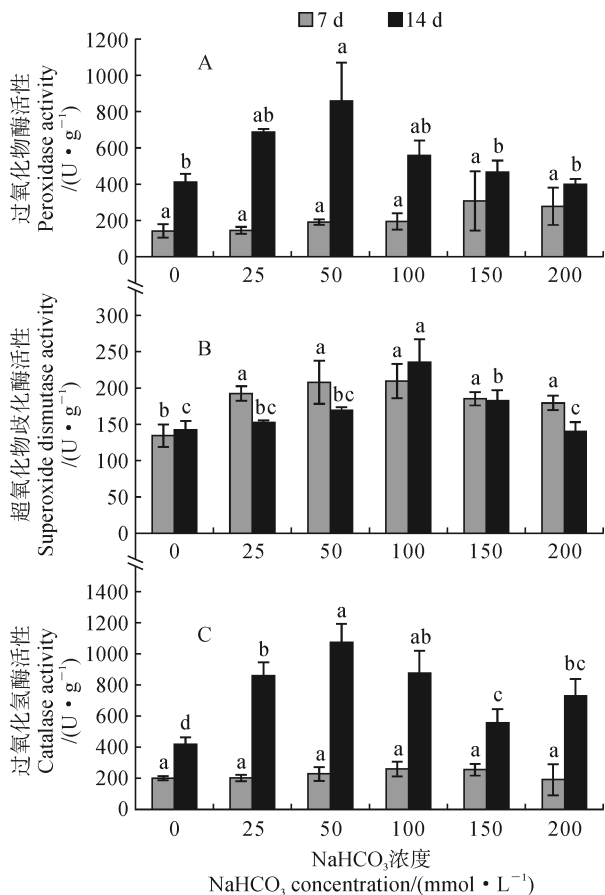


图 3 NaHCO<sub>3</sub> 处理下三色堇幼苗叶片 POD、SOD 和 CAT 活性

Fig. 3 POD, SOD and CAT activities in leaves of *V. tricolor* seedlings under NaHCO<sub>3</sub> treatments

活性均显著高于第 7 天(图 3,C)。

## 2.4 NaHCO<sub>3</sub> 处理对三色堇叶片叶绿素含量的影响

随着 NaHCO<sub>3</sub> 处理浓度的增加,三色堇叶片叶绿素含量(总叶绿素、叶绿素 a、叶绿素 b)在处理第 7 天和第 14 天均呈现出先升高后降低的趋势;第 14 天叶绿素含量在对照和 25 mmol · L<sup>-1</sup> 时高于第 7 天,在其余浓度下均低于第 7 天(图 4,A~C)。其中,在盐胁迫处理的第 14 天,胁迫浓度为 25 mmol · L<sup>-1</sup> 时最高,叶片总叶绿素、叶绿素 a、叶绿素 b 含量分别比对照增加了 7.92%、8.50% 和 6.12%,但差异不显著 ( $P > 0.05$ );在浓度为 200 mmol · L<sup>-1</sup> 时分别比对照显著降低了 23.26%、28.95% 和 5.92% ( $P < 0.05$ )。

## 2.5 NaHCO<sub>3</sub> 处理对三色堇叶片 MDA 含量的影响

图 5 显示,随着 NaHCO<sub>3</sub> 处理浓度的增加,三色堇叶片 MDA 含量在处理第 7 天和第 14 天均呈现出持续升高的趋势,且第 14 天始终高于第 7 天,但在各浓度处理下均与对照有显著差异 ( $P < 0.05$ )。其中,在盐胁迫处理的第 14 天,叶片 MDA

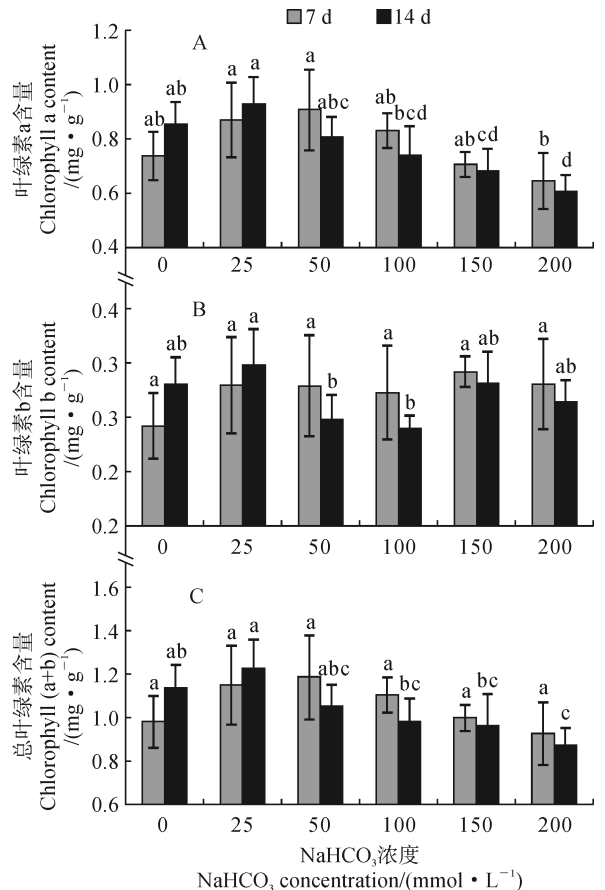


图 4 NaHCO<sub>3</sub> 处理下三色堇幼苗叶片叶绿素含量

Fig. 4 Chlorophyll contents in leaves of *V. tricolor* seedlings under NaHCO<sub>3</sub> treatments

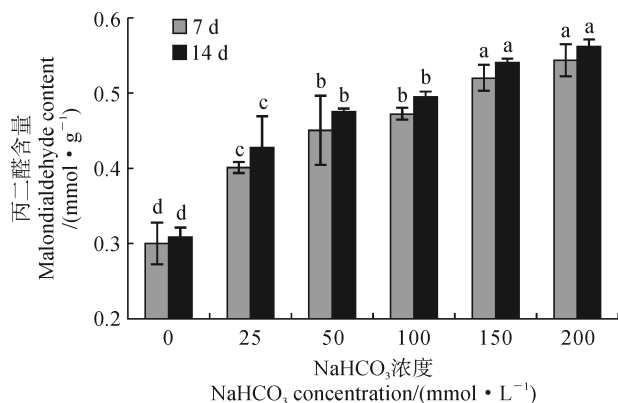


图5  $\text{NaHCO}_3$  处理下三色堇幼苗叶片丙二醛含量

Fig. 5 MDA content in leaves of *V. tricolor* seedlings under  $\text{NaHCO}_3$  treatments

含量胁迫浓度为  $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时最高, 比对照显著增加了 81.90%。

### 3 讨论

$\text{NaHCO}_3$  是干旱半干旱地区土壤中最常见的碱性盐<sup>[27]</sup>, 当土壤中  $\text{NaHCO}_3$  含量过高时, 对植物会产生  $\text{Na}^+$  和 pH 胁迫, 对植物的生长造成不良影响, 严重时会使植物代谢失调, 甚至死亡<sup>[28]</sup>。生长量是植物的生理生化过程反馈于植物的外在表现, 也是能用肉眼直接观测到的表型特征, 对逆境胁迫下植物的抗逆能力能进行直观的测定, 植物在逆境环境下的生长量与抗逆能力呈正相关, 生长好, 则表明其抗逆能力高<sup>[29]</sup>。本研究中, 在  $\text{NaHCO}_3$  浓度小于等于  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理下, 三色堇株高生长量高于或等于对照, 而当盐浓度大于  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 三色堇株高生长量随着盐浓度的升高明显下降。可见, 土壤中存在一定浓度的  $\text{NaHCO}_3$  ( $\leq 100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 有利于三色堇植株的生长, 但当土壤中盐浓度过高时 ( $>100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 对三色堇的高生长造成抑制。这与张木清等对  $\text{NaCl}$  胁迫下甘蔗 (*Saccharum officinarum*) 的相关研究结果相同<sup>[30]</sup>。

同时, 植物在盐胁迫条件下会通过主动积累渗透调节物质 SS、SP、Pro 等来维持细胞渗透势, 避免盐分过多地进入细胞, 从而降低逆境胁迫对植物的危害程度, 其积累量与抗逆能力呈正相关<sup>[31]</sup>。本研究发现, 三色堇植株在  $\text{NaHCO}_3$  胁迫下, 其叶片 SS、SP、Pro 积累量显著高于对照, 说明三色堇在  $\text{NaHCO}_3$  胁迫下能通过提高细胞内的渗透调节物质的含量来提高细胞的渗透压, 维持细胞的吸水 and 保水能力, 减缓盐胁迫对细胞的伤害, 这与 Al-Farsi

等对盐胁迫下紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) 的相关研究结果一致<sup>[32]</sup>。

另外, 植物在逆境胁迫下会通过提高抗氧化酶活性来清除过氧化氢、超氧阴离子等 ROS (活性氧), 以减缓 ROS 对植物细胞的伤害<sup>[9, 31]</sup>, 其活性与植物的抗逆性呈正相关。本研究发现, 三色堇植株经  $\text{NaHCO}_3$  处理后, 其叶片中 SOD、POD、CAT 活性整体呈现先升高后降低趋势; 在盐浓度小于等于  $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, SOD、POD、CAT 活性高于对照, 当盐处理浓度大于  $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 除 CAT 活性外, SOD、POD 活性均低于对照, 说明  $\text{NaHCO}_3$  盐浓度过高会加剧了三色堇细胞膜脂过氧化。渗透调节物质含量和抗氧化酶活性在盐胁迫处理 14 d 时均表现出随浓度的升高而降低的趋势, 这可能是当  $\text{NaHCO}_3$  浓度高于三色堇自身能调节的范围时, 导致渗透调节系统和抗氧化酶系统紊乱, 防御系统活性已不能维持较高水平, 进而抑制了三色堇的生长和发育, 这与梁晓艳等对  $\text{NaCl}$  胁迫下花生 (*Arachis hypogaea*) 的相关研究结果一致<sup>[3]</sup>。

此外, 叶绿体是植物进行光合作用的主要细胞器, 在盐胁迫条件下, 由于金属离子的毒害作用, 导致叶绿体内叶绿素降解<sup>[33]</sup>, 其降低程度与植物所受离子胁迫程度呈正相关。本研究发现, 在  $\text{NaHCO}_3$  胁迫第 14 天时, 三色堇叶片叶绿素含量以  $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理时最高, 超过此浓度后叶绿素降解速度加快, 含量迅速降低, 从而降低了光合速率, 抑制了三色堇的正常生长, 这与吕秀云等对盐胁迫下藜 (*Chenopodium album*) 的相关研究结果一致<sup>[34]</sup>。

最后, MDA 是细胞膜脂质过氧化的产物, 其含量与植物的抗逆性呈负相关<sup>[29]</sup>, 因此可以用 MDA 含量评价植物的抗逆境能力。本研究发现, 三色堇植株经  $\text{NaHCO}_3$  胁迫后, 叶片 MDA 含量在整个胁迫处理期间均呈持续升高趋势, 说明随着  $\text{NaHCO}_3$  浓度的升高胁迫程度加剧, 对质膜系统的伤害持续加大, 这与膜质过氧化而引起的细胞膜受损导致的电解质外渗有关。细胞膜是外界盐离子进入植物细胞的第一道屏障, 在植物抗盐生理中有重要作用<sup>[35]</sup>, 当细胞组织受到离子胁迫时, 三色堇体内自由基的大量产生引发膜脂过氧化<sup>[36]</sup>, 细胞膜的完整性和功能受到伤害, 膜的稳定性降低, 导致细胞内的原生质体和大分子物质通过损伤部位大量外溢<sup>[35-37]</sup>, 影响三色堇的正常代谢, 严重时会导致细胞死亡。同时, 有研究表明, 当土壤中  $\text{Na}^+$  过高时,  $\text{Na}^+$  将会取代细胞膜上的  $\text{Ca}^{2+}$ , 导致细胞膜出现漏洞, 细胞

内原生质体外渗,进而引起离子种类和离子浓度发生改变,这与李子英等对盐胁迫下柳树(*Salix psammophila*)的相关研究结果一致<sup>[29]</sup>。

## 4 结 论

NaHCO<sub>3</sub> 处理三色堇植株后,对其叶片抗氧化

酶活性、渗透调节物质含量、光合色素含量、丙二醛含量以及株高生长量产生了显著影响。在处理后 14 d,随 NaHCO<sub>3</sub> 浓度的升高,其叶片可溶性糖、可溶性蛋白、叶绿素含量和过氧化氢酶、过氧化物酶、超氧化物歧化酶活性,以及株高生长量均表现出先升高后降低的趋势,而丙二醛含量呈持续升高趋势。

## 参考文献:

- [1] ZHANG J L, FLOWERS T J, WANG S M. Mechanisms of sodium uptake by roots of higher plants[J]. *Plant and Soil*, 2009, **326**(1-2): 45-60.
- [2] 王佳丽, 黄贤金, 钟大洋, 等. 盐碱地可持续利用研究综述[J]. *地理学报*, 2011, **66**(5): 673-684.  
WANG J L, HUANG X J, ZHONG T Y, *et al.* Review on sustainable utilization of salt-affected land [J]. *Acta Geographica Sinica*, 2011, **66**(5): 673-684.
- [3] 梁晓艳, 顾寅钰, 李 萌, 等. 盐胁迫下不同耐盐性花生品种形态及生理差异研究[J]. *花生学报*, 2018, **47**(1): 19-26.  
LIANG X Y, GU Y Y, LI M, *et al.* Study on the morphological and physiological differences of different salt tolerant peanut varieties under salt stress[J]. *Journal of Peanut Science*, 2018, **47**(1): 19-26.
- [4] JAN A, OSMAN M B, AMANULLAH. Response of chickpea to nitrogen sources under salinity stress[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2013, **36**(9): 1 373-1 382.
- [5] 郭楠楠, 陈学林, 张 继, 等. 柽柳组培苗抗氧化酶及渗透调节物质对 NaCl 胁迫的响应[J]. *西北植物学报*, 2015, **35**(8): 1 620-1 625.  
GUO N N, CHEN X L, ZHANG J, *et al.* Changes in antioxidant activity and osmotic adjusting substance of *Tamarix chinensis* seedlings under NaCl stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2015, **35**(8): 1 620-1 625.
- [6] 姚 佳, 刘信宝, 崔 鑫, 等. 不同 NaCl 胁迫对苗期扁蓊豆渗透调节物质及光合生理的影响[J]. *草业学报*, 2015, **24**(5): 91-99.  
YAO J, LIU X B, CUI X, *et al.* Effects of NaCl stress on substances linked to osmotic adjustment and on photosynthetic physiology of *Melilotoides ruthenica* in the seedling stage[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2015, **24**(5): 91-99.
- [7] 王金平, 王舒甜, 岳健敏, 等. 香樟幼苗对 NaCl 胁迫的生理响应[J]. *中国水土保持科学*, 2016, **14**(5): 82-89.  
WANG J P, WANG S T, YUE J M, *et al.* Physiological response of *Cinnamomum camphora* seedlings to NaCl stress [J]. *Science of Soil and Water Conservation*, 2016, **14**(5): 82-89.
- [8] XING J C, DONG J, WANG M W, *et al.* Effects of NaCl stress on growth of *Portulaca oleracea* and underlying mechanisms[J]. *Brazilian Journal of Botany*, 2019, **42**(2): 217-226.
- [9] SHARMA P, DUBEY R S. Involvement of oxidative stress and role of antioxidative defense system in growing rice seedlings exposed to toxic concentrations of aluminum[J]. *Plant Cell Reports*, 2007, **26**(11): 2 027-2 038.
- [10] 贾新平, 邓衍明, 孙晓波, 等. 盐胁迫对海滨雀稗生长和生理特性的影响[J]. *草业学报*, 2015, **24**(12): 204-212.  
JIA X P, DENG Y M, SUN X B, *et al.* Impacts of salt stress on the growth and physiological characteristics of *Paspalum vaginatum* [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2015, **24**(12): 204-212.
- [11] MÄKELÄ P, KÄRKKÄINEN J, SOMERSALO S. Effect of glycinebetaine on chloroplast ultrastructure, chlorophyll and protein content, and RuBPCO activities in tomato grown under drought or salinity[J]. *Biologia Plantarum*, 2000, **43**(3): 471-475.
- [12] ZHANG Z H, WANG H, TANG Z H, *et al.* High NaHCO<sub>3</sub> stress causes direct injury to *Nicotiana tabacum* roots [J]. *Journal of Plant Interactions*, 2014, **9**(1): 56-61.
- [13] 胡 涛, 张鸽香, 郑福超, 等. 植物盐胁迫响应的研究进展[J]. *分子植物育种*, 2018, **16**(9): 3 006-3 015.  
HU T, ZHANG G X, ZHENG F C, *et al.* Research progress in plant salt stress response [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2018, **16**(9): 3 006-3 015.
- [14] 鲁少尉, 齐 飞, 李天来. NaCl 及等渗 PEG 胁迫对番茄叶片光合特性及蔗糖代谢的影响[J]. *华北农学报*, 2012, **27**(3): 136-141.  
LU S W, QI F, LI T L. Effect of NaCl and PEG iso-osmotic stresses on photosynthetic characteristics and sucrose metabolizing in tomato leaf[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2012, **27**(3): 136-141.
- [15] SHI D C, WANG D L. Effects of various salt-alkaline mixed stresses on *Aneurolepidium chinense* (Trin.) Kitag [J]. *Plant and Soil*, 2005, **271**(1-2): 15-26.
- [16] ENDO T. Biochemical and genetical investigations of flower color in Swiss giant pansy, *Viola × wittrockiana* gams. III [J]. *The Japanese Journal of Genetics*, 1959, **34**(4): 116-124.
- [17] 朱永兴, 韩春叶, 王志怀. 干旱胁迫对盆栽三色堇生理指标的影响[J]. *河南农业科学*, 2013, **42**(8): 109-111.  
ZHU Y X, HAN C Y, BAI Z H. Effect of drought stress on physiological indices of potted pansy[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2013, **42**(8): 109-111.
- [18] 刘会超, 贾文庆, 朱婷婷. 盐胁迫对三色堇 CAT、POD 活性及细胞膜透性的影响[J]. *河南农业科学*, 2010, **39**(4): 98-100.  
LIU H C, JIA W Q, ZHU T T. Effects of salt stress on

- CAT, POD and the cell membrane permeability of *Viola tricolor*[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2010, **39**(4): 98-100.
- [19] 尤 扬, 贾文庆. NaCl胁迫对三色堇SOD、POD及叶绿素含量的影响[J]. 北方园艺, 2012, (6): 64-66.  
YOU Y, JIA W Q. Effect of NaCl stress on SOD, POD and chlorophyll content in *Viola tricolor*[J]. *Northern Horticulture*, 2012, (6): 64-66.
- [20] 彭华婷, 高 悦, 杜红梅, 等. 高温胁迫对大花三色堇幼苗相关生理指标的影响[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2012, **30**(6): 66-71.  
PENG H T, GAO Y, DU H M, *et al.* Effects of heat stress on related physiological indexes of pansy cultivar seedlings [J]. *Journal of Shanghai Jiao Tong University (Agricultural Science)*, 2012, **30**(6): 66-71.
- [21] 陈宏志, 杜晓华, 穆金艳, 等. 大花三色堇和角堇对高温胁迫的生理响应[J]. 江苏农业科学, 2017, **45**(6): 124-126.  
CHEN H Z, DU X H, MU J Y, *et al.* Physiological response of *Viola tricolor* L. and *Viola cornuta* to high temperature stress [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2017, **45**(6): 124-126.
- [22] 齐阳阳, 杜晓华, 王梦叶, 等. 大花三色堇和角堇对低温胁迫的生理响应及其抗寒性[J]. 江苏农业科学, 2017, **45**(15): 115-118.  
QI Y Y, DU X H, WANG M Y, *et al.* Physiological response of *Viola tricolor* L. and *Viola cornuta* to low temperature stress and hardiness [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2017, **45**(15): 115-118.
- [23] 姜 成, 王景佳, 李佳美, 等. 重金属铬(Cr<sup>6+</sup>)对三色堇种子萌发及叶绿素含量的影响[J]. 北方园艺, 2018, (19): 78-82.  
JIANG C, WANG J J, LI J M, *et al.* Effect of Cr<sup>6+</sup> on the seed germination and chlorophyll content of *Viola tricolor* [J]. *Northern Horticulture*, 2018, (19): 78-82.
- [24] 刘建新, 王金成, 贾海燕. 燕麦幼苗对盐胁迫和碱胁迫的生理响应差异[J]. 水土保持学报, 2015, **29**(5): 331-336.  
LIU J X, WANG J C, JIA H Y. Differences between physiological responses of *Avenanuda* seedlings to salt and alkali stresses [J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2015, **29**(5): 331-336.
- [25] 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: 134-170.
- [26] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [27] 肖欣怡, 李 霞, 史飞航, 等. 西北地区盐碱地治理方案探讨[J]. 农业与技术, 2021, **41**(14): 142-145.  
XIAO X Y, LI X, SHI F H, *et al.* Discussion on saline-alkali land control scheme in northwest China [J]. *Agriculture and Technology*, 2021, **41**(14): 142-145.
- [28] 韩志平, 张海霞, 刘 冲, 等. NaCl胁迫对黄花菜生长和生理特性的影响[J]. 西北植物学报, 2018, **38**(9): 1 700-1 706.  
HAN Z P, ZHANG H X, LIU C, *et al.* Growth and physiological characteristics of daylily plants under NaCl stress [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2018, **38**(9): 1 700-1 706.
- [29] 李子英, 丛日春, 杨庆山, 等. 盐碱胁迫对柳树幼苗生长和渗透调节物质含量的影响[J]. 生态学报, 2017, **37**(24): 8 511-8 517.  
LI Z Y, CONG R C, YANG Q S, *et al.* Effects of saline-alkali stress on growth and osmotic adjustment substances in willow seedlings [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, **37**(24): 8 511-8 517.
- [30] 张木清, 陈如凯. NaCl胁迫对甘蔗生长影响的机理研究[J]. 甘蔗, 1994, (3): 8-12.  
ZHANG M Q, CHEN R K. Studies on the mechanism for effect of NaCl stress on sugarcane growth [J]. *Sugarcane*, 1994, (3): 8-12.
- [31] ANOKYE E, LOWOR S T, DOGBATSE J A, *et al.* Potassium application positively modulates physiological responses of cocoa seedlings to drought stress [J]. *Agronomy*, 2021, **11**(3): 563.
- [32] AL-FARSI S M, NAWAZ A, ANEES-UR-REHMAN, *et al.* Effects, tolerance mechanisms and management of salt stress in lucerne (*Medicago sativa*) [J]. *Crop and Pasture Science*, 2020, **71**: 411-428.
- [33] AGASTIAN P, KINGSLEY S J, VIVEKANANDAN M. Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes [J]. *Photosynthetica*, 2000, **38**(2): 287-290.
- [34] 吕秀云, 油天钰, 赵 娟, 等. 盐胁迫下藜的形态结构与生理响应[J]. 植物生理学报, 2012, **48**(5): 477-484.  
LÜ X Y, YOU T Y, ZHAO J, *et al.* Morphology and physiological responses of *Chenopodium album* L. under salt stress [J]. *Plant Physiology Journal*, 2012, **48**(5): 477-484.
- [35] 马丽清, 韩振海, 周二峰, 等. 盐胁迫对珠美海棠和山定子膜保护酶系统的影响[J]. 果树学报, 2006, **23**(4): 495-499.  
MA L Q, HAN Z H, ZHOU E F, *et al.* Effect of salt stress on protective enzyme system of membrane in *Malus zumi* and *M. baccata* [J]. *Journal of Fruit Science*, 2006, **23**(4): 495-499.
- [36] JUKNYS R, VITKAUSKAITĖ G, RAČAITĖ M, *et al.* The impacts of heavy metals on oxidative stress and growth of spring barley [J]. *Central European Journal of Biology*, 2012, **7**(2): 299-306.
- [37] 徐 宇, 肖化云, 郑能建, 等. 植物组织中游离氨基酸在盐胁迫下响应的研究进展[J]. 环境科学与技术, 2016, **39**(7): 40-47.  
XU Y, XIAO H Y, ZHENG N J, *et al.* Progress on responding of free amino acid in plants to salt stress [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, **39**(7): 40-47.