



外源 5-氨基乙酰丙酸对 NaCl 胁迫下 黑果枸杞幼苗生理及生长的影响

包新光¹, 郭有燕¹, 张金菊², 孔东升^{1,3*}, 种培芳², 卢雪梅⁴

(1 河西学院 农业与生态工程学院, 甘肃张掖 734000; 2 甘肃农业大学 林学院, 兰州 730070; 3 甘肃省黑果枸杞保护及开发利用
2011 协同创新中心 甘肃张掖 734000; 4 民勤县连古城沙生植物自然保护区管理站, 甘肃武威 733000)

摘 要: 5-氨基乙酰丙酸(ALA)是植物血红素、叶绿素等四吡咯化合物的关键生物合成前体,对植物适应非生物胁迫至关重要。为验证外源 ALA 对黑果枸杞幼苗生理生长的影响,该研究用 300 mmol · L⁻¹ NaCl 和不同浓度(0、5、10、15、20、25 mg · L⁻¹)的 ALA 共同处理黑果枸杞幼苗,并测定其相关的生理指标和生长指标,综合评价各处理幼苗的耐盐性。结果表明:(1)NaCl 胁迫使黑果枸杞幼苗总生物量和叶片总叶绿素、类胡萝卜素、可溶性糖含量以及过氧化物酶(POD)活性较 CK 分别显著降低了 33.39%、19.06%、24.38%、39.57%和 47.91%(*P* < 0.05),使黑果枸杞幼苗脯氨酸和丙二醛的含量较 CK 分别显著增加了 165.74%和 49.16%。(2)当外源 ALA 和 NaCl 同时处理时,黑果枸杞幼苗叶片类胡萝卜素和丙二醛含量、POD 和过氧化氢酶(CAT)活性以及株高、总生物量均恢复至对照水平,叶片总叶绿素和脯氨酸含量以及 SOD 活性较 CK 显著增加。(3)黑果枸杞幼苗叶片叶绿素和脯氨酸含量以及抗氧化酶活性、生物量等指标随 ALA 浓度增加均呈先上升后下降的趋势,隶属函数综合评价发现,叶面喷施 15 mg · L⁻¹ ALA 缓解盐胁迫伤害的效果最佳。研究认为,适宜浓度 ALA 可通过促进叶绿素和血红素的积累来调节黑果枸杞幼苗光合作用能力和抗氧化酶活性,增加体内脯氨酸的积累,有效缓解盐胁迫对植物的毒害作用,从而促进植株生长。

关键词: 黑果枸杞; 5-氨基乙酰丙酸(ALA); NaCl 胁迫; 抗氧化酶; 渗透调节物质; 光合色素

中图分类号: Q945.78; S663.9 **文献标志码:** A

Effect of Exogenous ALA on Physiological Characteristics and Growth of *Lycium ruthenicum* Seedlings under Salt Stress

BAO Xinguang¹, GUO Youyan¹, ZHANG Jinju², KONG Dongsheng^{1,3*},
CHONG Peifang², LU Xuemei⁴

(1 College of Agriculture and Ecological Engineering, Hexi College, Zhangye, Gansu 734000, China; 2 College of Forest of
Gansu Agriculture University, Lanzhou 730070, China; 3 Gansu Province Black Fruit Wolfberry Engineering Research Center,
Zhangye, Gansu 734000, China; 4 Management Station of Minqin Liangucheng National Nature Reserve, Wuwei, Gansu
733000, China)

Abstract: 5-aminolevulinic acid (ALA), a key biosynthetic precursor of tetrapyrroles, is vital for plants adaptation to abiotic stress. To verify the effects of different concentrations of ALA, we applied exogenous

收稿日期: 2022-06-30; 修改稿收到日期: 2022-11-20

基金项目: 甘肃省高等学校创新基金项目(2021A-122); 甘肃省高等学校产业支撑项目(2021CYZC-56); 甘肃省高等学校创新团队项目
(2018C-21); 武威市市级科技计划项目(ww190181)

作者简介: 包新光(1983—), 男, 在读博士研究生, 研究方向为植物逆境生物学。E-mail: 331705631@qq.com

* 通信作者: 孔东升, 教授, 博士, 研究方向为植被生态植被恢复。E-mail: Kongdsh@sohu.com

ALA with different concentrations (0, 5, 10, 15, 20, 25 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) to the leaves of *Lycium ruthenicum* seedlings subjected to 300 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl. Then, the physiological and growth indexes of *L. ruthenicum* seedlings were determined, and comprehensively evaluated the salt tolerance of the seedlings under each treatments. Results revealed that: (1) compared with the control, the plant biomass, the contents of chlorophyll, carotenoid and soluble protein, the activity of POD were significantly decreased by 33.39%, 19.06%, 24.38%, 39.57% and 47.91% ($P < 0.05$) in *L. ruthenicum* leaves under the salt stress, but the contents of proline (Pro) and malondialdehyde (MDA) were significantly increased by 165.74% and 49.16%, respectively. (2) When exogenous ALA and NaCl were treated at the same time, the contents of carotenoid and malondialdehyde (MDA), the activities of CAT, POD, the plant height and total biomass were restored to the control level, and the contents of chlorophyll and proline (Pro) were significantly increased compared with the control in *L. ruthenicum* seedlings. (3) The contents of carotenoid and proline, the activities of antioxidant enzymes and biomass of the leaves of *L. ruthenicum* seedlings performed a trend that first increased and then decreased with the add of ALA concentration. The evaluation by membership function analysis indicated that 15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ALA had the best effects on alleviating salt stress in *L. ruthenicum* seedlings under 300 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl stress. These findings suggested that ALA of appropriate concentration can regulate photosynthesis and antioxidant enzyme activities of *L. ruthenicum* seedlings by promoting the accumulation of chlorophyll and heme, and increase the accumulation of proline *in vivo*, thus effectively alleviating the toxic effect of salt stress on plants and promoting plant growth.

Key words: *Lycium ruthenicum*; 5-aminolevulinic acid; NaCl stress; antioxidant; osmotic adjustment substances; photosynthetic pigment

中国盐渍土总面积约为 $3.69 \times 10^7 \text{ hm}^2$, 土壤盐渍化是限制农业可持续发展的一个主要因素^[1]。农业上通过各类物理、化学、水利工程和生物等途径来改良盐渍土, 其中的生物改良是盐渍土改良与盐渍化治理最绿色经济的有效措施。但是, 盐胁迫会抑制植物的生长, 还会导致植物产生更多的活性氧, 从而破坏细胞氧化还原过程的平衡, 导致氧化损伤, 如光合功能降低、细胞膜受损、代谢效率下降和离子渗漏等^[2]。目前植物生长调节剂(如: 生长素、细胞分裂素、赤霉素、脱落酸、水杨酸等)在植物生长调节和非生物胁迫缓解中的潜在作用已被大量研究^[3]。5-氨基乙酰丙酸(ALA)是一种易溶于水的白色结晶粉末状碳氢化合物, 为高等植物和动物中叶绿素、血红素和维生素 B₁₂ 等吡咯化合物合成的关键前体物质^[4-5]。近年来, ALA 被广泛应用于农业生产中, 促进植物生长, 缓解玉米(*Zea mays* L.)^[6]、番茄(*Solanum tuberosum* L.)^[7-8]、花生(*Arachis hypogaea* L.)^[9]、黄瓜(*Cucumis sativus* L.)^[10]的盐胁迫, 降低黑果枸杞(*Lycium ruthenicum* Murr.)^[11]、玉米^[12]、黄瓜^[13]、油菜(*Brassica campestris* L.)^[14]的干旱胁迫以及黄瓜^[15-16]、番茄^[17]低温或重金属等非生物胁迫伤害, 从而提高逆境胁迫下的农作物产量。

黑果枸杞属茄科枸杞属多年生灌木, 是典型的荒漠盐生植物, 具有极强耐盐性、抗旱性和耐贫瘠能力。它主要分布在中国新疆、青海、宁夏、甘肃等省

区^[18], 在甘肃省主要分布于瓜州、敦煌、金塔、张掖、民勤等地区的荒漠盐碱地^[19]。它既是一种典型的高度耐盐碱植物, 也是中国西北盐碱荒漠地区的重要建群树种之一^[20]。近年来, 对于黑果枸杞的研究主要集中于果实花青素、花色苷等多酚类物质提取、营养成分分析, 以及逆境下种子萌发、幼苗生理指标、形态指标、解剖结构等方面。研究学者通过施加外源物质^[21-23]来缓解盐胁迫对黑果枸杞幼苗的毒害作用, 从而提高黑果枸杞耐盐能力。但不同的外源物质对不同植物的生理及生长影响不同, 目前有关 ALA 响应黑果枸杞幼苗 NaCl 胁迫的研究鲜见报道。因此, 本试验通过外源喷施 ALA 来考察不同浓度 ALA 对 NaCl 胁迫下黑果枸杞幼苗生理特性的影响, 探索 ALA 对黑果枸杞幼苗盐胁迫的缓解作用机理, 提升黑果枸杞耐盐性, 为提高黑果枸杞对盐碱地的适应能力及改良中国盐碱地和荒漠化治理措施提供绿色经济的有效途径, 充分发挥和提升黑果枸杞的经济和生态双重效应。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验在河西学院黑果枸杞协同创新中心和农学实习基地完成, 试验地点位于甘肃省张掖市($38^{\circ}57' \text{ N}$, $100^{\circ}26' \text{ E}$), 属于典型的温带大陆性气候, 其特点是干燥、日照时间长、昼夜温差大, 常年多有风沙, 年

平均气温 4.1~8.3 ℃,年平均日照时 2 932~3 085 h。试验使用的 ALA 由河西学院化学与化工学院有机合成实验室合成。黑果枸杞种子采自民勤县青土湖野生黑果枸杞植株。

1.2 实验设计

挑选大小一致、籽粒饱满的黑果枸杞种子,于 2021 年 5 月播种于穴盘中,待幼苗长至 8~10 cm 高时移植到外口径为 24.8 cm,高为 15 cm 的塑料花盆中,盆栽基质为土壤、砂质土、腐殖质(1:2:1)的混合土,每盆装入等量的土,每盆 1 株,共计 100 盆。等缓苗后,选择长势一致的幼苗进行处理。试验设置空白对照(CK,不添加 NaCl 和喷施 ALA)以及同时添加 300 mmol·L⁻¹ NaCl 和喷施 0、5、10、15、20 和 25 mg·L⁻¹ ALA 处理(分别表示为 SA₀、SA₅、SA₁₀、SA₁₅、SA₂₀ 和 SA₂₅),每个处理 3 个重复,每个重复 3 盆。ALA 预处理是在 NaCl 处理前 24 h 将设计浓度的 ALA 溶液喷施于盆栽黑果枸杞幼苗叶面上,对照组喷施纯净水,每隔 2 d 喷施 1 次,连续 3 次。黑果枸杞可以耐受 150 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫,在 200~400 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫下可以存活,但影响其正常生长。本研究选取 300 mmol·L⁻¹ NaCl 进行盐胁迫处理,每天每盆浇灌 NaCl 溶液 200 mL,连续浇 3 d,总量达 600 mL。在 NaCl 胁迫处理 21 d 后采取同一位序的叶子装入冰盒带回实验室,测定各项生理生化指标。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 生长指标 在处理结束时采用刻度尺量取黑果枸杞的株高;然后破坏性取样,分别收取植株地上和地下部分,用低温采样箱带回实验室并用纯净水清洗,滤纸吸干表面水分,分别称其鲜重。

1.3.2 光合色素含量 称取新鲜叶片样品 0.3 g 置于预冷的研钵中,立即在低温、避光条件下进行研磨,加 2 mL 80%丙酮继续研磨至叶片完全变白,将匀浆转入 25 mL 容量瓶中,再分 2 次用 2 mL 80%丙酮冲洗研钵,然后定容至 25 mL,取上清液按照高俊山等^[24]的方法测定叶绿素 a(Chla)、叶绿素 b(Chlb)、总叶绿素[Chl(a+b)]和类胡萝卜素(Car)的含量。

1.3.3 抗氧化酶活性 称取新鲜叶片样品 0.3 g 置于研钵(含少量石英砂)中,加液氮研磨,然后再加 2 mL 预冷的 0.05 mol·L⁻¹、pH 为 7.8 的磷酸缓冲液继续研磨成匀浆,将匀浆转入 5 mL 离心管中,分 2 次加 1 mL 磷酸缓冲液冲洗研钵,然后定容至 5 mL,4 000 r/min、4 ℃ 离心 20 min。吸取 1 mL 上

清液于 15 mL 离心管测量可溶性蛋白含量;剩余上清液继续 10 000 r/min、4 ℃ 冷冻离心 20 min,吸上清液至新离心管,采用氮蓝四唑(NBT)光还原法^[24]测定超氧化物歧化酶(SOD)活性;采用愈创木酚显色法^[24]测定过氧化物酶(POD)活性;过氧化氢酶(CAT)活性、抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性由南京禾叶兰生物科技有限公司采用试剂盒测定。

1.3.4 渗透调节物含量 丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸比色法测定^[24];脯氨酸(Pro)含量采用酸性茚三酮法测定^[24];可溶性糖(SS)采用蒽酮比色法测定^[24];可溶性蛋白(SP)含量采用考马斯亮蓝 G-250 法测定^[24]。

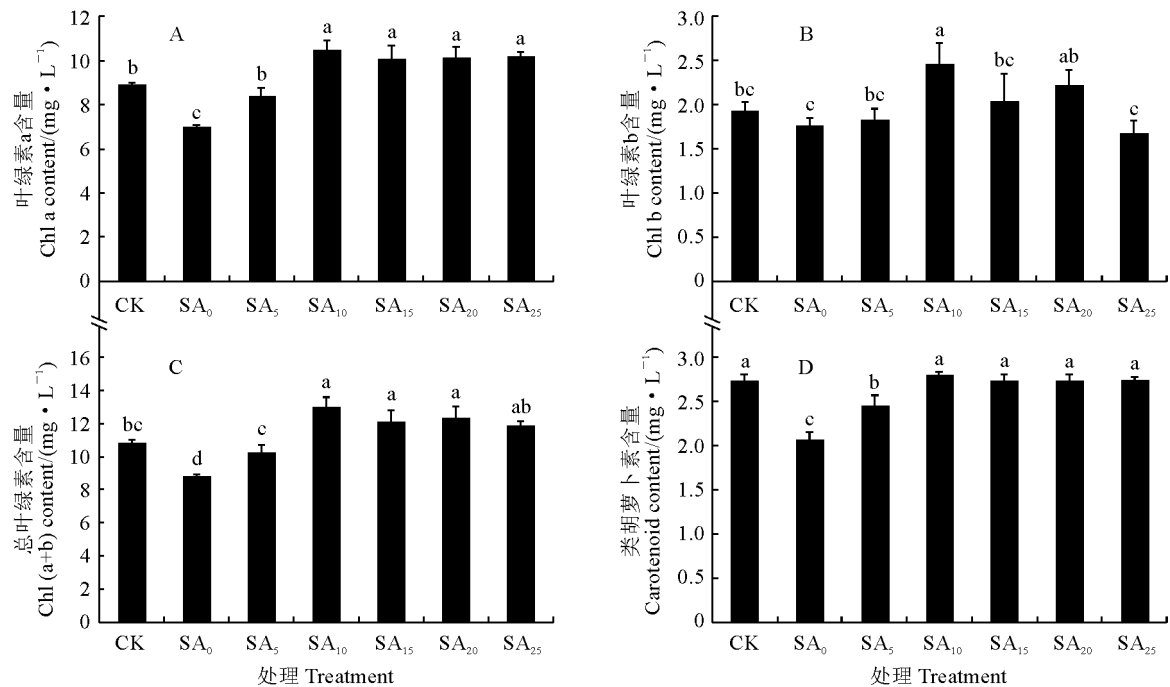
1.4 数据处理

所有试验均设计 3 次重复,应用 SPSS 26.0 软件进行单因素方差分析,不同组间采用 Duncan 法进行差异显著性多重比较($\alpha=0.05$),并用 Origin 2021 软件作图。利用隶属函数模型对不同浓度 ALA 处理的黑果枸杞幼苗耐盐性进行综合评价,与耐盐性呈正相关的指标用 $R(X_i) = (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$,负相关的指标用 $R(X_i) = 1 - (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$ 计算。式中的 X_i 为测定值, $X_{\min}$ 和 $X_{\max}$ 分别为测定值的最小值和最大值。

2 结果与分析

2.1 外源 ALA 对 NaCl 胁迫下黑果枸杞幼苗叶片光合色素含量的影响

由图 1,A、C、D 可以看出,在 300 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫下(SA₀),黑果枸杞幼苗叶片叶绿素 a、总叶绿素和类胡萝卜素含量较 CK 分别显著降低了 21.32%、24.38% 和 19.06%($P<0.05$);与 SA₀ 处理相比较,黑果枸杞幼苗叶片叶绿素 a、总叶绿素和类胡萝卜素含量在各浓度 ALA 处理(SA₅~SA₂₅)后均显著增加,且 SA₁₀~SA₂₅ 处理的叶绿素 a 和总叶绿素的含量均显著高于 CK,它们的类胡萝卜素含量也较 CK 稍高,但这些处理间均无显著差异。同时,黑果枸杞幼苗叶片叶绿素 b 含量在 SA₀ 处理下比 CK 有所降低,随 ALA 浓度增加呈现先上升后下降的趋势,且均与 SA₀ 处理相比显著升高或无显著变化,并以 SA₁₀ 处理缓解效果最佳,较 CK 和 SA₀ 处理分别显著增加了 27.22% 和 29.33% (图 1,B)。以上结果说明外源喷施 ALA 可以通过上调黑果枸杞幼苗叶片叶绿素和类胡萝卜素含量来增强其耐盐性。



CK 为对照(无 NaCl 和外源 ALA 处理),SA₀、SA₅、SA₁₀、SA₁₅、SA₂₀ 和 SA₂₅ 分别表示叶面喷施 0、5、10、15、20 和 25 mg · L⁻¹ ALA 后再进行 300 mmol · L⁻¹NaCl 胁迫处理;试验数据均为 3 次重复的平均值±标准差,不同小写字母表示指标在不同处理间具有显著性差异($P<0.05$),下同

图 1 不同浓度外源 ALA 下 NaCl 胁迫黑果枸杞幼苗叶片光合色素含量的变化

CK was blank control without NaCl and exogenous ALA treatment, SA₀, SA₅, SA₁₀, SA₁₅, SA₂₀ and SA₂₅ were respectively treated with 300 mmol/L NaCl after spraying 0, 5, 10, 15, 20 and 25 mg/L ALA on the leaf surface; The data in the figure is the mean ± standard deviation of three replicates. The different normal letters indicate significant differences between treatments at the 0.05 level. The same as below

Fig. 1 The photosynthetic pigment contents in leaves of *Lycium ruthenicum* seedlings under NaCl and different ALA concentrations treatments

2.2 外源 ALA 对 NaCl 胁迫下黑果枸杞幼苗叶片抗氧化酶活性的影响

图 2 显示,在 NaCl 胁迫下(SA₀),黑果枸杞幼苗叶片 SOD、APX 活性均较 CK 增加,而其 POD、CAT 活性较 CK 降低,且 APX 活性显著增加了 16.91% ($P<0.05$),POD 活性显著降低了 47.91%。随着叶面喷施 ALA 浓度升高,SA₅~SA₂₅ 处理黑果枸杞幼苗叶片 SOD、POD、CAT、APX 活性呈现先上升后下降的变化趋势,并大多在 SA₁₀ 或者 SA₂₅ 处理下达到最大值。其中,黑果枸杞幼苗叶片 SOD、CAT 活性均在 SA₁₀ 处理下达到最大值,分别比 SA₀ 处理显著增加了 48.27% 和 24.22%,其余处理均与 SA₀ 无显著差异(图 2,A、C);各处理叶片 POD 活性均比 SA₀ 处理不同程度升高,且 SA₁₀~SA₂₅ 处理增幅均达到显著水平,分别达到 79.77%、111.71%、53.66% 和 45.37% (图 2,B);叶片 APX 活性在 SA₅~SA₂₀ 处理下均与 SA₀ 处理无显著差

异,但在 SA₂₅ 处理组显著下降至对照水平。以上结果表明,外源喷施 ALA 通过提高黑果枸杞幼苗叶片抗氧化酶活性来缓解盐胁迫引起的细胞过氧化应激,从而提高其对盐胁迫的耐受性。

2.3 外源 ALA 对 NaCl 胁迫下黑果枸杞幼苗叶片渗透调节物质和 MDA 含量的影响

由图 3 可知,SA₀ 处理黑果枸杞幼苗叶片可溶性蛋白、脯氨酸(Pro)和 MDA 含量较 CK 分别显著增加了 9.29%、165.74% 和 49.16% ($P<0.05$),而其可溶性糖含量较 CK 显著降低了 39.57%。喷施不同浓度的外源 ALA 可以不同程度地提高 NaCl 胁迫下黑果枸杞幼苗叶片可溶性糖和 Pro 含量,而不同程度地降低其可溶性蛋白和 MDA 含量。其中,各浓度外源 ALA 处理使黑果枸杞幼苗叶片可溶性蛋白含量均较 SA₀ 处理显著下降,并恢复至对照组水平,而不同浓度的 ALA 处理之间没有差异(图 3,A)。图 3,B、C 显示,黑果枸杞幼苗叶片中可

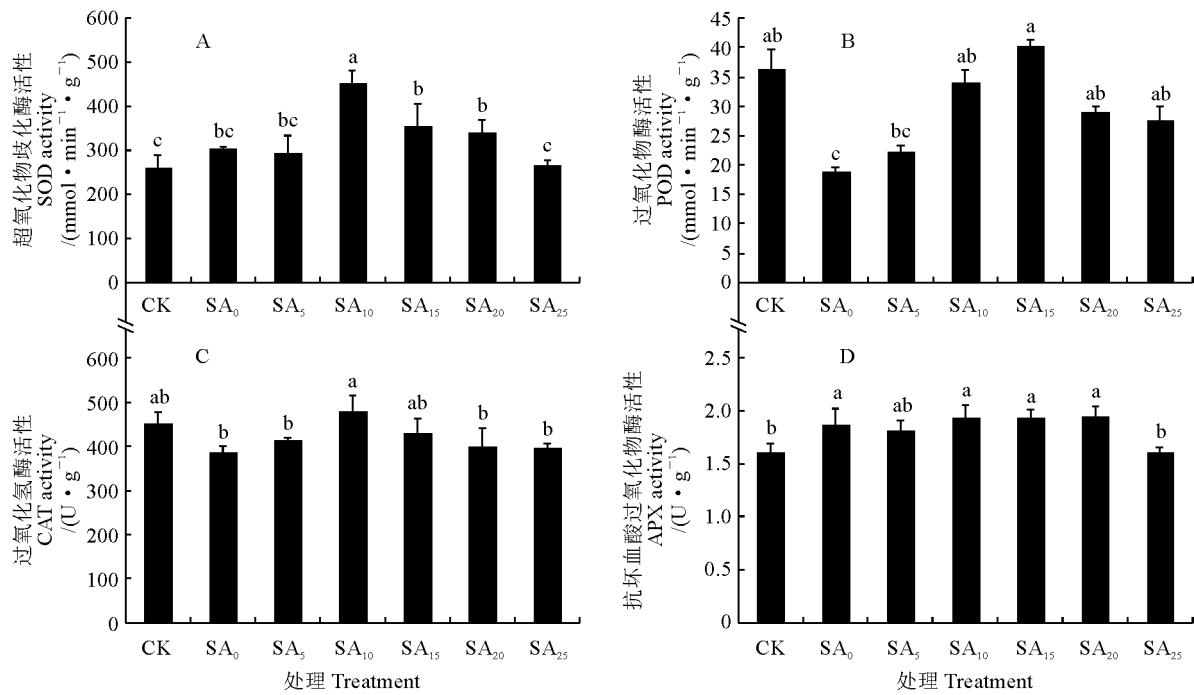


图 2 不同浓度 ALA 下 NaCl 胁迫黑果枸杞幼苗叶片抗氧化性酶活性的变化
Fig. 2 The antioxidant activities in leaves of *L. ruthenicum* seedlings under NaCl and different ALA concentration treatments

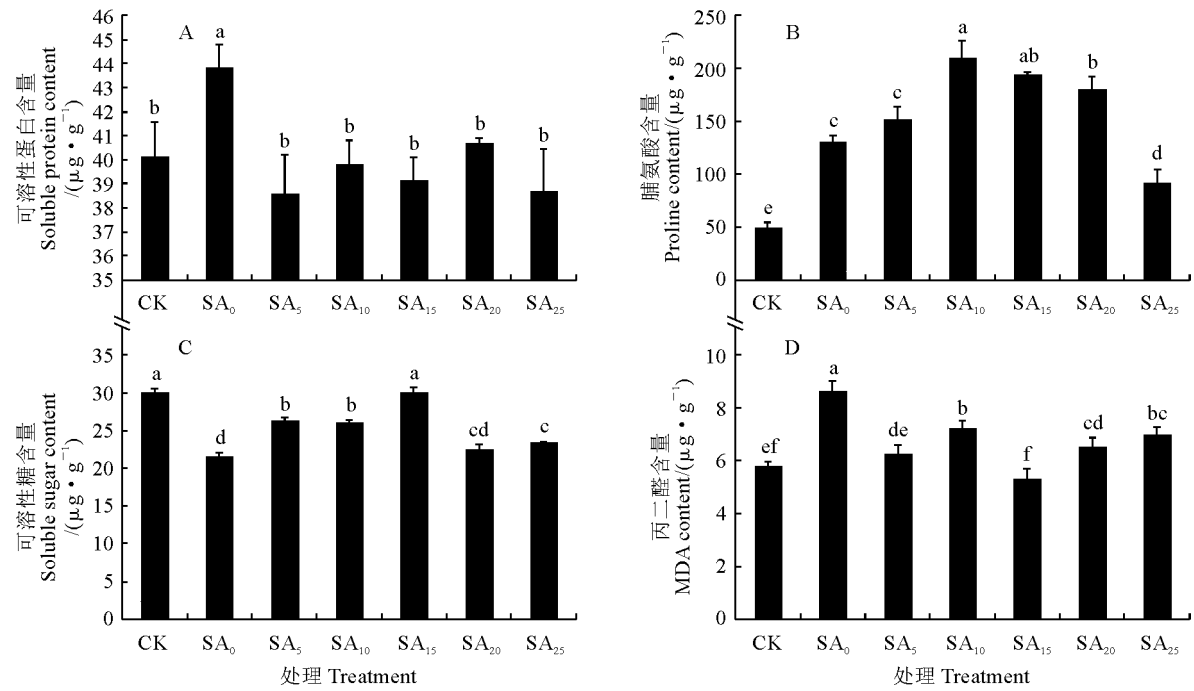


图 3 不同浓度 ALA 下 NaCl 胁迫黑果枸杞幼苗叶片渗透调节物质和丙二醛(MDA)含量的变化
Fig. 3 The osmotic adjustment substance and MDA contents in leaves of *L. ruthenicum* seedlings under NaCl and different ALA concentration treatments

溶性糖和 Pro 含量随着 ALA 浓度升高呈现先上升后下降的变化趋势;与 SA₀ 处理相比,叶片可溶性糖含量在 SA₅、SA₁₀、SA₁₅ 和 SA₂₅ 处理下增幅均达到显著水平,并以 SA₁₅ 处理增幅最大达 39.71%;

各浓度 ALA 处理叶片 Pro 含量均不同程度高于 SA₀ 处理,且除 SA₂₀ 处理外增幅均达到显著水平,并以 SA₁₅ 处理增幅最大(61.37%)。外源喷施不同浓度的 ALA 使 NaCl 胁迫下黑果枸杞幼苗叶片中

MDA 含量均显著降低,并以 SA₁₅ 处理降幅最大达 38.79% (图 3,D)。以上结果表明,外源喷施适宜浓度的 ALA 通过增加黑果枸杞幼苗叶片可溶性糖和 Pro 的含量有效缓解盐胁迫对叶片细胞的毒害,显著降低了盐胁迫引起的叶片过氧化损伤程度。

2.4 外源 ALA 对 NaCl 胁迫下黑果枸杞幼苗生长的影响

由表 1 来看,SA₀ 处理黑果枸杞幼苗株高、地上鲜重、地下鲜重、总鲜重较 CK 分别显著降低了 12.96%、34.84%、30.98%和 33.39% ($P<0.05$),盐胁迫显著抑制黑果枸杞幼苗的生长;黑果枸杞幼苗株高、地上鲜重和地下鲜重均随 ALA 浓度增加呈先上升后下降的趋势,适宜的 ALA 浓度处理使各生长指标恢复至对照水平。其中,SA₁₀~SA₂₀ 处理株高均显著高于 SA₀ 处理,其中 SA₂₀ 处理增幅最高达到 11.29%;SA₁₀~SA₂₅ 处理地上鲜重均显著高于 SA₀ 处理,SA₁₅ 处理增幅最高(38.70%);各浓度 ALA 处理地下鲜重均较 SA₀ 处理显著提高,且均与 CK 无显著差异,其中 SA₂₀ 处理显著升高了 44.90%;SA₁₀~SA₂₅ 处理总生物量均显著高于 SA₀

处理,并以 SA₁₅ 处理增幅最高(38.73%),且大多恢复至 CK 水平。

2.5 各浓度 ALA 处理黑果枸杞幼苗耐盐性的综合评价

黑果枸杞幼苗叶片总叶绿素(Ct)、类胡萝卜素(Cx.c)、可溶性糖(SS)、脯氨酸(Pro)含量以及抗氧化酶活性(SOD、POD、CAT 和 APX)与植物耐盐性呈正相关,而可溶性蛋白含量、丙二醛含量与植物耐盐性呈负相关。根据生理生化指标利用隶属函数模型综合评价黑果枸杞幼苗的耐盐性,平均函数值结果(表 2)显示,15 mg·L⁻¹ ALA 处理(SA₁₅)对缓解黑果枸杞幼苗盐害的效果最佳,其次是 10 mg·L⁻¹ ALA 处理(SA₁₀),20、5 和 25 mg·L⁻¹ ALA 处理较差,这与各处理生长指标的表现相对一致。

3 讨论

盐胁迫是影响植物生长的主要非生物胁迫之一,它可引起植物生理干旱,影响植物生理代谢与营养吸收,阻碍其正常生长,严重影响植物产量和生态环境保护。植物生长调节剂 ALA 被普遍认为是一

表 1 外源喷施不同浓度 ALA 后 NaCl 胁迫黑果枸杞幼苗生长指标的变化

Table 1 The growth characteristics of <i>L. ruthenicum</i> seedlings under NaCl and different ALA concentration treatments				
处理 Treatment	株高 Plant height/cm	地上鲜重 Fresh weight above ground/g	地下鲜重 Fresh weight under ground/g	总生物量(鲜重) Total biomass (fresh weight)/g
CK	26.46±0.72a	3.53±0.21a	2.13±0.15a	5.66±0.29a
SA ₀	23.03±0.69c	2.30±0.15d	1.47±0.11b	3.77±0.23c
SA ₅	24.14±0.56bc	2.59±0.26cd	1.89±0.12a	4.48±0.35bc
SA ₁₀	25.30±0.43ab	2.86±0.38bc	1.89±0.28a	4.75±0.66b
SA ₁₅	25.58±0.89ab	3.19±0.24ab	2.04±0.27a	5.23±0.47ab
SA ₂₀	25.63±0.59ab	3.02±0.16abc	2.13±0.04a	5.15±0.15ab
SA ₂₅	24.25±1.07bc	3.02±0.22abc	2.07±0.14a	5.09±0.32ab

注:同列不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平具有显著性差异($P<0.05$),试验数据均为 3 次重复的平均值±标准差
Note: The data in the table is the mean ± standard deviation of three replicates. The different normal letters within same column indicate significant differences at the 0.05 level between treatments

表 2 不同浓度 ALA 处理组的隶属函数值

Table 2 Subordinate function values of ALA treatment groups with different concentrations

处理 Treatment	酶活性 Enzyme activity				生理指标 Physiological index						平均值 Average	排名 Rank
	POD	SOD	CAT	APX	Ct	Cx.c	SP	SS	Pro	MDA		
SA ₅	0.00	0.14	0.19	0.60	0.00	0.00	1.00	0.52	0.50	0.50	0.34	4
SA ₁₀	0.66	1.00	1.00	0.97	1.00	1.00	0.42	0.46	1.00	0.00	0.75	2
SA ₁₅	1.00	0.47	0.39	0.96	0.69	0.82	0.74	1.00	0.86	1.00	0.79	1
SA ₂₀	0.39	0.40	0.03	1.00	0.77	0.82	0.00	0.00	0.75	0.36	0.45	3
SA ₂₅	0.30	0.00	0.00	0.00	0.60	0.87	0.95	0.12	0.00	0.12	0.30	5

种改善植物非生物胁迫耐受性,促进植物生长,目前已在农业生产中广泛应用。但是,由于植物光合作用模式的差异,不同的植物对不同浓度 ALA 响应有所差异,本研究分析了不同浓度 ALA 和 NaCl 共同处理下黑果枸杞幼苗各项生理和生长指标的响应特征。

首先,外源性 ALA 改变了叶绿素和血红素生物合成途径中中间体的积累,对植物生长和适应胁迫环境至关重要。在盐胁迫下,施用外源 ALA 会诱导叶片叶绿素含量的积累,从而增强光合作用效率^[8, 25-26]。本研究发现,黑果枸杞幼苗叶片叶绿素 a、总叶绿素和类胡萝卜素含量在 300 mmol/L NaCl 胁迫 (SA₀) 下较对照显著降低,在外源 ALA 和 NaCl 共同处理后又较 SA₀ 处理显著升高;同时,外源 ALA 施用也使黑果枸杞幼苗株高、地上和地下生物量较 SA₀ 处理显著升高。这主要是由于 ALA 是四吡咯生物合成途径中最关键的中间体,其通过促进黑果枸杞叶片光合色素的积累来增加植株的生物量、提高对盐胁迫的耐受性,这一结果与前人研究结果相同。因此,在黑果枸杞幼苗上施用 ALA 可以有效改善 NaCl 造成的有害影响,从而促进植物的生长。

同时,ALA 通过调节植物抗氧化酶的活性,维持细胞内活性氧(ROS)的代谢平衡,保护自身细胞膜免受损伤。本研究发现,NaCl 胁迫使黑果枸杞幼苗叶片 APX 活性较 CK 显著增加,而 POD 活性较 CK 显著降低;在 NaCl 胁迫下,叶片 SOD、POD、APX 和 CAT 活性均随外源 ALA 浓度的升高呈现先升高后降低的变化趋势,表明适宜浓度的 ALA 增强了黑果枸杞幼苗叶片抗氧化酶活性,有效清除植株体内过量积累的活性氧,从而有效缓解了盐胁迫对黑果枸杞幼苗造成的过氧化损伤,植株有充足的物质和能量用于自身生长,使黑果枸杞幼苗株高增加,生物量积累;然而,ALA 浓度过高又会打破黑果枸杞幼苗植株原有的代谢平衡,体内抗氧化酶活性反而下降,从而抑制植株生长。这一结果与在黄瓜^[27]、决明子^[28] 中的相关研究结果一致。多项研究指出,血红素是参与 ROS 解毒的重要抗氧化酶的重要辅助因子^[29]。欧洲油菜幼苗血红素积累的减少不是由于血红素的生物合成减少,而是更多地用于增强其抗氧化酶的活性,以清除盐胁迫产生的活性氧^[26]。盐胁迫会显著减少植株内源性血

红素积累,而外源 ALA 增加了体内血红素水平和抗氧化酶的活性^[8],由此推断,外源 ALA 通过调节血红素的含量来改变幼苗抗氧化酶活性,从而提高黑果枸杞幼苗的耐盐性。

另外,ALA 也改变了植株渗透调节物质的含量,降低细胞液的渗透势,调节渗透平衡。在 NaCl 胁迫条件下,本研究中黑果枸杞幼苗叶片可溶性蛋白含量较 CK 显著增加,可溶性糖含量则显著降低,但外源 ALA 处理使其可溶性蛋白含量恢复至对照水平,只有 15 mg · L⁻¹ ALA 处理组黑果枸杞幼苗叶片可溶性糖含量恢复至对照水平。脯氨酸是调节渗透平衡的重要化合物,在盐胁迫条件下,外源施用 ALA 可导致植株体内脯氨酸积累,最终影响番茄^[8]、花生^[9]和西瓜幼苗^[30]的耐盐性。有趣的是,脯氨酸和 ALA 共享一种共同的生物合前体谷氨酸,表明脯氨酸和 ALA 之间可能存在竞争关系^[8]。施用外源 ALA 导致脯氨酸生物合成缺少竞争对象,从而增加脯氨酸含量^[26]。本研究结果表明,外源 ALA 增加了 NaCl 胁迫下黑果枸杞幼苗叶片脯氨酸的含量,与前人研究结果一致。MDA 是膜脂过氧化的最终产物,其含量是评价膜脂过氧化和质膜损伤的重要指标。外源喷施 ALA 会使盐胁迫下紫花苜蓿幼苗^[31]、花椰菜幼苗^[32]、酸枣种子及幼苗^[33]等丙二醛含量降低。本研究结果显示,不同浓度的 ALA 处理均能显著降低由盐胁迫产生的 MDA 含量,与前人研究结果一致。类似的结果表明,外源 ALA 可以通过降低盐胁迫对植物幼苗细胞膜脂质过氧化毒害,维持了植株正常生长所需的渗透平衡。

综上所述,在 NaCl 盐胁迫条件下,叶面喷施外源 ALA 可通过增加黑果枸杞幼苗叶片叶绿素和血红素生物合成中间体(四吡咯)的浓度,导致叶片光合作用能力、抗氧化酶活性增强,使植株生物量和脯氨酸不断积累,最终促进植物的生长和耐盐性。综合各项生长指标表现和生理指标隶属函数分析结果可知,外源喷施 15 mg · L⁻¹ ALA 处理对缓解黑果枸杞幼苗遭受盐胁迫伤害的效果最佳。目前,在农业生产中主要使用 ALA 来缓解非生物胁迫对植物生长的影响,但是,ALA 调节植物发育和提高植物抗逆性的分子机制尚不清楚,以及在盐渍土改良和沙漠化防治方面应用较少,今后还应更多地加强该方面的研究。

参考文献:

[1] 杨劲松,姚荣江,王相平,等. 中国盐渍土研究:历程、现状与展望[J]. 土壤学报, 2022, **59**(1): 10-27.

YANG J S, YAO R J, WANG X P, *et al.* Research on salt-affected soils in China: history, status quo and prospect[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, **59**(1): 10-27.

[2] KIBRIA M G, HOSSAIN M, MURATA Y, *et al.* Antioxidant defense mechanisms of salinity tolerance in rice genotypes[J]. *Rice Science*, 2017, **24**(3): 155-162.

[3] RHAMAN M S, IMRAN S, KARIM M M, *et al.* 5-aminolevulinic acid-mediated plant adaptive responses to abiotic stress[J]. *Plant Cell Reports*, 2021, **40**(8): 1 451-1 469.

[4] 汪良驹,姜卫兵,章 镇,等. 5-氨基乙酰丙酸的生物合成和生理活性及其在农业中的潜在应用[J]. 植物生理学通讯, 2003,(3): 185-192.

WANG L J, JIANG W B, ZHANG Z, *et al.* Biosynthesis and physiological activities of 5-aminolevulinic acid (ALA) and its potential application in agriculture[J]. *Plant Physiology Communications*, 2003,(3): 185-192.

[5] TANAKA R, TANAKA A. Chlorophyll cycle regulates the construction and destruction of the light-harvesting complexes[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics*, 2011, **1 807**(8): 968-976.

[6] 程红玉,王俊科,肖占文,等. 5-氨基乙酰丙酸(ALA)对玉米幼苗盐胁迫的缓解效应研究[J]. 农业开发与装备, 2021,(2): 149-150.

CHENG H Y, WANG J K, XIAO Z W, *et al.* Alleviating effect of 5-aminolevulinic acid (ALA) on salt stress in maize seedlings[J]. *Agricultural Development & Equipments*, 2021, (2): 149-150.

[7] ZHAO Y Y, YAN F, HU L P, *et al.* Effects of exogenous 5-aminolevulinic acid on photosynthesis, stomatal conductance, transpiration rate, and *PIP* gene expression of tomato seedlings subject to salinity stress[J]. *Genetics and Molecular Research*, 2015, **14**(2): 6 401-6 412.

[8] ZHANG Z P, MIAO M M, WANG C L. Effects of ALA on photosynthesis, antioxidant enzyme activity, and gene expression, and regulation of proline accumulation in tomato seedlings under NaCl stress[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2015, **34**(3): 637-650.

[9] 杨 莎,赵路颖,宋珊珊,等. 5-氨基乙酰丙酸调控花生耐盐性的生理机制研究[J]. 中国油料作物学报, 2020, **42**(6): 1 035-1 042.

YANG S, ZHAO L Y, SONG S S, *et al.* Mechanism of 5-aminolevulinic acid on salt tolerance in peanut[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2020, **42**(6): 1 035-1 042.

[10] WU Y, HU L L, LIAO W B, *et al.* Foliar application of 5-aminolevulinic acid (ALA) alleviates NaCl stress in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings through the enhancement of ascorbate-glutathione cycle[J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 257:108 761.

[11] GUO Y Y, YU H Y, YANG M M, *et al.* Effect of drought stress on lipid peroxidation, osmotic adjustment and antioxidant enzyme activity of leaves and roots of *Lycium ruthenicum* Murr. seedling[J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2018, **65**(2): 244-250.

[12] 王 鹏,王铁兵,王 瑞,等. 外源 5-氨基乙酰丙酸对干旱胁迫下玉米幼苗生理特性及抗氧化酶基因表达的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2021, **39**(1): 75-81.

WANG P, WANG T B, WANG R, *et al.* Effects of exogenous 5-ALA on physiological characteristics and antioxidant enzyme gene expression of maize seedlings under drought stress[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2021, **39**(1): 75-81.

[13] 邓硕真,刘惠军,王洪芹,等. 外源 5-氨基乙酰丙酸对干旱胁迫下黄瓜种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 湖北农业科学, 2021, **60**(3): 70-74+78.

DENG S Z, LIU H J, WANG H Q, *et al.* Effects of exogenous 5-aminolevulinic acid on seed germination and seedling growth of cucumber under drought stress[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2021, **60**(3): 70-74+78.

[14] AKRAM N A, IQBAL M, MUHAMMAD A, *et al.* Aminolevulinic acid and nitric oxide regulate oxidative defense and secondary metabolisms in canola (*Brassica napus* L.) under drought stress[J]. *Protoplasma*, 2018, **255**(1): 163-174.

[15] ANWAR A, YAN Y, LIU Y, *et al.* 5-aminolevulinic acid improves nutrient uptake and endogenous hormone accumulation, enhancing low-temperature stress tolerance in cucumbers[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, **19**(11): 3 379.

[16] LIU T, XU J J, ZHANG J, *et al.* Exogenous 5-aminolevulinic acid pretreatment ameliorates oxidative stress triggered by low-temperature stress of *Solanum lycopersicum*[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2018, **40**(12): 210.

[17] ZHANG H H, XU Z S, GUO K W, *et al.* Toxic effects of heavy metal Cd and Zn on chlorophyll, carotenoid metabolism and photosynthetic function in tobacco leaves revealed by physiological and proteomics analysis[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 202: 110 856.

[18] 刘荣丽,杨海文,司剑华. 不同的生长调节剂对黑果枸杞硬枝扦插育苗的影响[J]. 安徽农业科学, 2011, **39**(19): 11 447-11 448.

LIU R L, YANG H W, SI J H. Effect of different growth regulator on raising seedlings of *Lycium ruthenicum* Murr by hardwood cuttings[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, **39**(19): 11 447-11 448.

[19] 林 丽,张裴斯,晋 玲,等. 黑果枸杞的研究进展[J]. 中国药房, 2013, **24**(47): 4 493-4 497.

LIN L, ZHANG P S, JIN L, *et al.* Research progress of *Lycium ruthenicum*[J]. *China Pharmacy*, 2013, **24**(47): 4 493-4 497.

[20] 郭有燕, 刘宏军, 孔东升, 等. 干旱胁迫对黑果枸杞幼苗光合特性的影响[J]. *西北植物学报*, 2016, **36**(1): 124-130.

GUO Y Y, LIU H J, KONG D S, *et al.* Effect of drought stress on photosynthesis characteristics of *Lycium ruthenicum* seedlings[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2016, **36**(1): 124-130.

[21] 聂必林, 巫利梅, 如马南木·尼合买提, 等. 外源褪黑素对复合盐碱胁迫下黑果枸杞种子萌发和幼苗生长的缓解效应[J]. *西北植物学报*, 2021, **41**(10): 1 711-1 724.

NIE B L, WU L M, NIGMAT R, *et al.* Alleviating effects of exogenous melatonin on seed germination and seedling growth of *Lycium ruthenicum* under complex salt-alkali stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2021, **41**(10): 1 711-1 724.

[22] 马永慧, 李永洁, 李 进. NaCl 与干旱双重胁迫下黑果枸杞幼苗对外源水杨酸的生理响应[J]. *广西植物*, 2022, **42**(4): 668-675.

MA Y H, LI Y J, LI J. Physiological responses of *Lycium ruthenicum* seedlings on exogenous salicylic acid under salt-drought mixed stress[J]. *Guihaia*, 2022, **42**(4): 668-675.

[23] 李善家, 韩多红, 王恩军, 等. 外源甜菜碱对盐胁迫下黑果枸杞种子萌发和幼苗保护酶活性的影响[J]. *草业科学*, 2016, **33**(4): 674-680.

LI S J, HAN D H, WANG E J, *et al.* Effects of exogenous betaine on seed germination and antioxidase activities of *Lycium ruthenicum* seedlings under NaCl stress[J]. *Pratacultural Science*, 2016, **33**(4): 674-680.

[24] 高俊山, 蔡永萍. 植物生理学实验指导[M]. 2 版. 北京: 中国农业大学出版社, 2018.

[25] TANG X Q, WANG Y, LÜ T T, *et al.* Role of 5-aminolevulinic acid on growth, photosynthetic parameters and antioxidant enzyme activity in NaCl-stressed *Isatis indigotica* Fort[J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2017, **64**(2): 198-206.

[26] XIONG J L, WANG H C, TAN X Y, *et al.* 5-aminolevulinic acid improves salt tolerance mediated by regulation of tetrapyrrole and proline metabolism in *Brassica napus* L. seedlings under NaCl stress[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, 124: 88-99.

[27] ZHEN A, BIE Z L, HUANG Y, *et al.* Effects of 5-aminolevulinic acid on the H₂O₂-content and antioxidative enzyme gene expression in NaCl-treated cucumber seedlings[J]. *Biologia Plantarum*, 2012, **56**(3): 566-570.

[28] ZHANG C P, LI Y C, YUAN F G, *et al.* Role of 5-aminolevulinic acid in the salinity stress response of the seeds and seedlings of the medicinal plant *Cassia obtusifolia* L[J]. *Bot Stud*, 2013, **54**(1): 18.

[29] NAGAHATENNA D S K, LANGRIDGE P, WHITFORD R. Tetrapyrrole-based drought stress signalling[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2015, **13**(4): 447-459.

[30] CHEN G, FAN P S, FENG W M, *et al.* Effects of 5-aminolevulinic acid on nitrogen metabolism and ion distribution of watermelon seedlings under salt stress[J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2017, **64**(1): 116-123.

[31] 李丹丹, 梁宗锁, 杨宗岐, 等. 外源 5-氨基乙酰丙酸对干旱胁迫下紫花苜蓿生理特性及次生代谢物含量的影响[J]. *西北植物学报*, 2019, **39**(10): 1 827-1 834.

LI D D, LIANG Z S, YANG Z Q, *et al.* Effect of exogenous 5-aminolevulinic acid on physiological characteristics and secondary metabolite contents of alfalfa seedling under drought stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2019, **39**(10): 1 827-1 834.

[32] 范夕玲, 杨亚苓, 任 健, 等. 外源 5-氨基乙酰丙酸对盐胁迫下花椰菜幼苗生理特性的影响[J]. *天津农业科学*, 2019, **25**(12): 1-4.

FAN X L, YANG Y L, REN J, *et al.* Effects of exogenous 5-aminolevulinic acid on physiological characteristics of cauliflower seedlings under salt stress[J]. *Tianjin Agricultural Sciences*, 2019, **25**(12): 1-4.

[33] 李芳芳. 外源 5-氨基乙酰丙酸对酸枣种子及幼苗 NaCl 胁迫缓解效应的研究[D]. 新疆石河子: 石河子大学, 2017.

(编辑:裴阿卫)