

文章编号 :1003-8701(2009)01-0043-04

盐胁迫对白三叶茎的 POD、CAT 的影响研究

刘会超,贾文庆

(河南科技学院园林学院园林系,河南 新乡 453003)

摘 要 以白三叶为材料,研究了不同浓度 NaCl 胁迫下对茎 SOD、POD、CAT、MDA 的影响。结果表明:随着 NaCl 胁迫浓度的增加和胁迫时间的延长,SOD 与 POD 活性呈现先上升后下降的趋势。CAT 活性在 50~250 mmol·L⁻¹ 处理呈现先上升后下降的趋势;随着胁迫浓度的增加和胁迫时间的延长,抗氧化酶活性降低,细胞膜受害严重,丙二醛含量升高,在 200 mmol·L⁻¹ 胁迫下达最大值,随后逐渐下降。

关键词 白三叶;盐胁迫;生理特性

中图分类号 Q945.78

文献标识码 A

Studies on POD, CAT of White Clover Stems under Salt Stress

LIU Hui-chao, JIA Wen-qing

(School of Horticulture and Landscape Architecture, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

Abstract: *Trifolium repens* was used as material to study the effect of salt stress on SOD, POD, MDA, CAT of the stem. The results showed that: SOD activity and POD activity increased firstly, then decreased with the increase of NaCl concentrations and the prolonging stress time. CAT activity increased at first and then decreased when salt stress vary from 50 to 250 mmol·L⁻¹. Antioxidant enzyme activity decreased, membrane seriously harmed, MDA content increased and reached a maximum under 200 mmol·L⁻¹ NaCl, and then decreased gradually with the increase of NaCl concentrations and the prolonging stress time.

Key words: *Trifolium repens*; Salt stress; Physiological characteristic

白三叶(*Trifolium repens*)为豆科三叶草属多年生植物,具有很好的固氮作用,因此又被称为优质固氮牧草^[1]。繁茂的茎叶可以沤制绿肥,是良好的蜜源植物,全株可入药。白三叶还是一种非常具有推广价值的地被植物、城市绿化理想草种和良好的水土保持植物。

随着耕地面积的逐年递减,盐渍土资源的开发利用越来越受到人们的重视^[2]。河南濒临黄河,是盐碱地的重灾区。在农业产业结构调整中,牧草生产越来越受到人们的重视,利用盐渍土资源进行牧草生产,将盐渍土改良和利用与畜牧业生产

结合起来,可发挥巨大的生态效益和经济效益。鉴于此,用 NaCl 溶液处理研究了盐胁迫对白三叶茎的若干生理特性的影响,为牧草在盐渍土资源开发中的利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本试验所用种子 2007 年 9 月购买于郑州贝利得花卉有限公司。

1.2 材料的培养

以沙土、蛭石和腐叶土为基质,按 1.5:1:1 的比例混合均匀,用 50% 可湿性多菌灵粉剂 10 g 进行灭菌,密封堆放 5 d 待用。选用健壮饱满,均匀一致,无病虫害的白三叶种子,用纱布包裹好,在清水中浸泡 4~6 h 后,置于 25℃ 的恒温箱内催芽 8~12 h 直至露白。称取 272.00 g 烘干基质放

收稿日期:2008-08-18

基金项目:河南省创新人才基金(20055003)和河南科技学院重点项目基金资助。

作者简介:刘会超(1964-),男,博士,教授,从事生物技术方面的研究。

入营养钵,定量浇水后将催好芽的种子播于带有底盘的营养钵中,播后置于窗台上培养,为满足白三叶生长发育的要求及确保生长条件均匀一致,生长期间进行人工补光,光照时间为 14 h/d,光强约为 2 500 lx。待幼苗长至 5~6 片真叶时,控水 4 d,选生长一致的 60 盆用 NaCl 溶液处理。

1.3 NaCl 溶液的处理

对照用蒸馏水浇灌,NaCl 溶液浓度梯度为:0,50,100,150,200,250 mmol·L⁻¹,处理方法是用水 NaCl 溶液每 24 h 递增 50 mmol·L⁻¹ 至终浓度,每天浇灌 1 次,浇灌量为基质持水量的 2 倍,约 2/3 的溶液流出,从而将以前的积余盐冲洗掉,以保持 NaCl 浓度恒定。处理 5 d 后测定有关指标。

1.4 试验方法

1.4.1 酶液提取

称取鲜茎 0.5 g 于预冷的研钵中,加入 1 mL 0.05 mol·L⁻¹ pH7.0 磷酸缓冲液在冰浴上研磨成浆,加缓冲液使终体积为 5 mL。将提取液于 10 000 r/min 冷冻离心 20 min,上清液用于 POD、CAT 活力测定。

1.4.2 过氧化物酶(POD)活力的测定

酶液提取 5 mL,在试管中依次加入 4 mL 0.3% 愈创木酚 (0.02 mol·L⁻¹, pH6 磷酸缓冲液配置)、50 μL 酶液、50 μL 0.3% H₂O₂,摇匀,立即计时,1 min 后在 470 nm 波长下比色,每 1 min 记录一次吸光度值,连续记录 5 min,以每分钟内 ΔA_{470} 变化 0.01 为 1 个过氧化物酶活性单位(U)^[3]。

1.4.3 过氧化氢酶(CAT)活力的测定

酶液提取 5 mL。取酶提取液 50 μL,加入 3 mL 0.05 mol·L⁻¹ pH7.0 磷酸缓冲液,再加入 0.3% H₂O₂ 200 μL,迅速摇匀,立即计时,1 min 后在 UV-754 分光光度计的 240 nm 浓度下比色,每 1

min 记录 1 次吸光度值,连续记录 5 min。以每分钟内 ΔA_{240} 下降 0.01 为 1 个酶活性单位(U)^[6-7]。

2 结果与分析

2.1 POD 活力的测定

POD 通过催化 H₂O₂ 与其它底物反应以消耗 H₂O₂,减少 H₂O₂ 对生物体的伤害作用,使植物免于受害^[5]。

从图 1 可以看出,不同处理间茎的 POD 活性变化趋势不同,总体来看,随盐胁迫浓度的提高和胁迫时间的延长,POD 活性呈现先上升后下降的趋势。在短期轻度盐胁迫下 POD 活性明显上升,表明植物体对胁迫作出反应,通过调节自身的 POD 活性以减轻活性氧的伤害作用;到 100 mg·L⁻¹ 时达到顶峰,而后缓慢下降,表明此时盐害对植物的伤害程度超过植物自身的调节能力,保护酶系统受到破坏,从而导致 POD 活性下降。

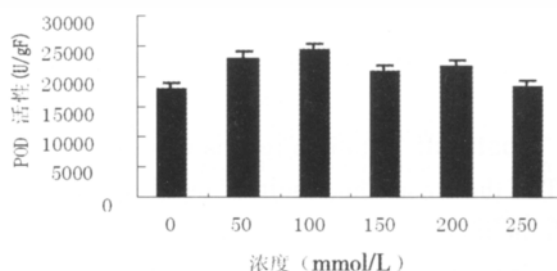


图 1 不同浓度 NaCl 胁迫处理下 POD 活性

从表 1 可知,在 F=0.05 和 F=0.01 水平上,各个处理 POD 活性变化差异显著。为了进一步探讨各个处理之间 POD 活性变化,采用新复极差法进行比较。通过比较发现,CK 与 100 mmol·L⁻¹、200 mmol·L⁻¹ 之间差异不显著,与 50 mmol·L⁻¹、150 mmol·L⁻¹ 之间差异显著,其中 50 mmol·L⁻¹、

表 1 不同盐浓度对 POD 活性的显著性分析

浓度(mmol·L ⁻¹)	0	50	100	150	200	250
POD(U/gF)	22 765.71± 987.00abA	17 879.85± 1 297.00cC	24 026.73± 1 050.00aA	18 191.3± 1 064.00cBC	21 760.43± 1 069.00abAB	20 831.3± 1 143.00bABC

100 mmol·L⁻¹ 之间差异极显著。

2.2 CAT 活力的测定

CAT 能够在逆境胁迫或衰老过程中清除植物体内的过氧化氢,保护膜结构,减轻有毒物质对活细胞的毒害,延迟或阻止细胞结构的破坏,从而使植物能在一定程度上忍耐、减缓或抵抗逆境胁迫,其 CAT 活性高低与植物的抗逆性密切相关^[5]。

图 2 表明, CAT 活性变化随处理的不同呈现出不同的变化趋势。在盐胁迫 50、100、150、200、

250 mmol·L⁻¹ 之间,随着盐胁迫浓度的增加和胁迫时间的延长,CAT 活性在轻度胁迫下先上升,以后逐渐下降,200 mmol·L⁻¹ 时活性最高,此时,植物具有较高的抵抗活性氧伤害的能力,将活性氧的伤害降到植物可以忍受的程度;随之 CAT 活性迅速降低,表明随着胁迫浓度的增加和胁迫时间的延长,活性氧对白三叶的伤害加剧;在 250 mmol·L⁻¹ 处理时,处于最小值,表明茎在较高浓度胁迫下,盐分对其产生较严重的伤害,使白三叶

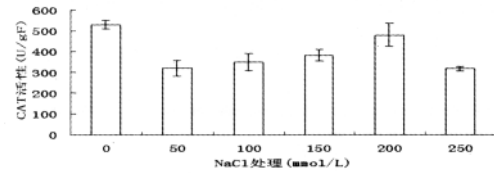


图 2 不同浓度 NaCl 胁迫处理 CAT 活性

表 2 不同盐浓度对 CAT 活性的显著性分析

浓度 (mmol·L ⁻¹)	0	50	100	150	200	250
CAT (μ /gHmin)	525.28± 7.463 9A	322± 2.828 4B	349.5± 0.707 1C	382.8± 1.721 1D	481.0± 1.414 2E	316.8± 0.235 7E

3 讨 论

盐胁迫下植物体内活性氧的积累是导致盐害的主要原因之一,在正常生长情况下,植物细胞内活性氧的产生和清除处于动态平衡,不会伤害细胞,而多种逆境胁迫都引发细胞内活性氧的过量生产、积累而打破了平衡,活性氧导致膜过氧化和脱脂化从而使细胞结构和功能都受到破坏。植物对胁迫的响应之一就是这些保护酶活性的变化,如禾本科牧草^[7]、豆科牧草^[8]等在 NaCl 胁迫下均表现保护酶活性不同程度的增加。本试验也表明,NaCl 可引起白三叶茎中 SOD、POD 和 CAT 活性的提高。但是不同浓度的 NaCl 溶液对白三叶茎中 SOD、POD 和 CAT 活性有着不同的影响,浓度过高会导致膜脂过氧化或膜脂脱脂作用,从而破坏膜结构,使膜差别透性消失,导致一系列有害的生理生化变化,使清除平衡系统受到破坏,使活性氧含量增加,从而导致细胞的伤害。在盐胁迫下,植物的生长会受到明显的抑制,抑制程度既取决于盐胁迫水平,又取决于植物的抗盐能力和盐胁迫的时间^[9]。在短期轻度盐胁迫下,SOD 活性和 POD 活性均呈上升趋势,这可能是白三叶在抗盐机理方面对盐胁迫的一种适应性表现;但在高浓度或长期胁迫下,超过了其自身的忍耐程度,导致 SOD 和 POD 活性下降,不能有效地清除氧自由基从而启动膜脂质过氧化作用或膜脂脱脂作用,破坏膜的结构,可能是盐胁迫对白三叶细胞造成伤害的重要原因之一。在 100、150 mmol·L⁻¹ 浓度内,NaCl 对白三叶茎中 CAT 活性的影响不大,维持一个相对稳定的水平,在 250 mmol·L⁻¹ 处理时,处于最小值,表明茎在较高浓度胁迫下,盐分对其产生较严重的伤害,使白三叶自我调节能力逐渐减弱。

生物膜作为植物与外界环境间的一层界膜在

自我调节能力逐渐减弱。

从表 2 可知,在 F=0.05 和 F=0.01 水平上,各个处理 CAT 活性变化差异不显著。为了进一步探讨各个处理之间 CAT 活性变化,采用新复极差法进行比较。通过比较发现,250 mmol·L⁻¹ 与各个处理之间差异较显著,其它差异之间差异不显著。

这个过程中起着决定性作用,所以膜特征及膜保护系统功能的强弱将直接影响到植物的生理生化代谢和其它生长过程。许多研究已经指出 植物在低温、干旱、大气污染、高盐分和强辐射下都可以增强膜脂质过氧化作用的进程,这是由于上述因子能影响植物体内活性氧代谢系统的平衡,即增加活性氧,如超氧化物阴离子自由基、过氧化氢、氢氧自由基、单线态氧的产生,而这些活性氧则能启动膜脂质过氧化作用或膜脂脱脂作用,从而破坏膜的结构^[10]。丙二醛是活性氧启动的细胞膜脂质过氧化产物之一,膜脂的过氧化作用可直接导致细胞膜结构和功能的破坏,丙二醛含量的高低反映了活性氧代谢及对细胞膜破坏的程度。本试验结果表明,MDA 含量呈现先升后降的变化趋势,说明白三叶体内可能存在盐胁迫而诱导自由基的伤害,自由基对膜的攻击造成 MDA 积累,使膜的结构和功能受到破坏。

参考文献:

- [1] 樊江文. 肥饲兼优的果园豆科绿肥——白三叶[J]. 农业科技通讯,1998(3): 26- 27 .
- [2] 李 昀,沈禹颖,阎顺国. NaCl 胁迫下 5 种牧草种子萌发的比较研究[J]. 草业科学,1997,14(2): 50- 53 .
- [3] Kenneth B M. Salinity tolerance mechanism of six C4 turf grasses [J]. J.Amer.Soc.Hort Sic.,1994,119(4): 779- 784 .
- [4] Horst GL, Beadle NB. Salinity affects germination and growth of tall Fescue cultivars[J]. J.Amer.Sci.,1984,109(3): 419- 422 .
- [5] 刘金文,佟丹丹,关利娅. NaCl 胁迫对不同苜蓿品种超氧化物歧化酶同工酶的影响[J]. 黑龙江八一农垦大学学报,2006 (6): 4- 7 .
- [6] 杨颖丽,杨 宁,王 菜,等. 盐胁迫对小麦幼苗生理指标的影响[J]. 兰州大学学报(自然科学版),2007(2): 29- 32 .
- [7] 王宝春,白冬梅,王 雁,等. 盐胁迫条件下不同草种耐盐碱表现[J]. 天津农业科学,2006(12): 44- 46 .
- [8] 王征宏,杨 起,张亚冰. 盐胁迫下紫花苜蓿种子的萌发特性[J]. 河南科技大学学报(自然科学版),2006(1): 57- 69 .
- [9] 段德玉,刘小京,冯凤莲. 不同盐胁迫对盐地碱蓬种子萌发

的效应[J]. 中国农学通报, 2003, 19(6): 100-103.

[10] 周兴元, 曹福亮. 土壤盐分胁迫对三种暖季型草坪草保护酶

活性及脂质过氧化作用的影响 [J]. 林业科学研究, 2005, 18(3): 336-341.

(上接第 28 页)

2.4 药剂防治试验

表 3 蓖麻枯萎病药剂防治试验结果

处理	苗期		成株期		
	病情指数(%)	防效(%)	发病率(%)	病情指数(%)	防效(%)
抗枯宁	11.50	61.45	14.23	13.70	58.42
菌枯净	15.53	46.16	20.15	18.47	43.95
敌克松	13.80	53.74	17.41	15.16	53.99
多菌灵	14.98	49.78	20.08	19.16	41.85
对照	29.83		33.97	32.95	

从表 3 结果可以看出, 抗枯宁和敌克松两种药剂处理防效相对较好, 而另外两种药剂处理也有一定防效, 但不理想。

3 结论和讨论

3.1 蓖麻枯萎病在蓖麻生育期任何生长阶段都可能发生, 危害部位包括根部、茎秆、叶片和果穗等。可造成根部坏死、茎叶枯萎、植株矮小、果穗瘦瘪、减产乃至绝收。蓖麻枯萎病的典型表现症状是在适宜发病的条件下, 在叶片背面或茎秆发病一侧表面可见淡粉色或粉白色霉层, 可以根据田间是否出现蓖麻枯萎病发病症状, 采取相应的防治措施。

3.2 分离培养的病原菌特征与中科院鉴定结果相吻合, 这一结果可为蓖麻枯萎病的药剂防治研究提供重要参考。可以用抑菌圈的方法在实验室内选出有效的防治药剂, 再根据蓖麻枯萎病的危害特点选用相应剂型即可达到防治的目的。

3.3 不同的蓖麻品种对蓖麻枯萎病的抗性存在显著差异。蓖麻枯萎病的发生特点是由轻到重逐渐发展的, 病害发生的越早、持续的时间越长, 危

害越严重。这些特点为蓖麻抗枯萎病育种提供了理论参考, 可用此法对蓖麻品种资源进行抗枯萎病鉴定, 进而获得一批抗蓖麻枯萎病的资源材料, 服务于蓖麻抗枯萎病育种。

3.4 先进的栽培技术措施有利于减轻蓖麻枯萎病的发生。种子带菌和土壤带菌都能引起蓖麻枯萎病的发生, 而由于连作导致土壤中病原菌的积累是蓖麻枯萎病发生的主要原因^[3]。土壤肥力和前茬作物的不同也可导致蓖麻枯萎病发生程度的差异。这项试验为蓖麻生产栽培提供了理论指导依据。

3.5 就目前农药市场情况来看, 还没有发现对蓖麻枯萎病有特效的农药来防治蓖麻枯萎病。相对较好的处理药剂有抗枯宁和敌克松等。关于药剂防治蓖麻枯萎病在农药种类、剂型以及用药时期、用药方法等方面还有很大的探讨空间, 应进一步研究。

3.6 就目前栽培水平来看, 只有用综合防治的方法, 在蓖麻栽培的各环节加强管理, 尽可能使用感病较轻的蓖麻品种, 采取轮作措施, 选择有利于蓖麻生长的前茬, 如豆茬、麦茬等地块, 结合药剂防治, 才能达到控制或减轻蓖麻枯萎病的发生, 增加蓖麻产量和收益的目的。

参考文献:

- [1] 沙洪林. 白城地区蓖麻枯萎病发生严重 [J]. 白城农业科技, 1989(4).
- [2] 张云万, 等. 蓖麻品种资源与抗病性关系的研究[C]. 蓖麻资源综合利用研究文集, 1994(10): 42-44.
- [3] 张云万, 等. 蓖麻重茬研究简报[C]. 1992 第三届全国蓖麻资源综合利用交流会论文集.