

NaCl 预处理对盐胁迫下水稻种子萌发特性的影响

刘少华, 朱学伸, 王 晗, 闫 敏

(江苏第二师范学院生命科学与化学化工学院, 南京 210013)

摘要:以杂交稻南粳9108种子为试验材料,研究了NaCl预处理对盐胁迫下水稻种子的发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数、丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性、抗坏血酸(AsA)含量和还原型谷胱甘肽(GSH)含量的影响。结果显示,与对照组相比,0.1% NaCl试验组种子的发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数分别增加了12.2%、14.6%、58.3%和120.8%,MDA含量减少了38.7%,SOD、CAT活性分别增加了65.2%、50.2%,AsA、GSH含量分别增加了113.2%、47.1%,差异均达到显著水平($P<0.05$)。POD活性比对照组有所增加,但无显著差异。0.2% NaCl试验组种子上述发芽指标、保护酶活性、还原性物质含量明显低于对照组和0.1% NaCl试验组,而MDA含量则较对照组和0.1% NaCl试验组显著增加。结果表明,0.1% NaCl预处理可能通过提高种子萌发期的抗氧化能力,抑制脂质过氧化产物的过度积累,从而促进种子在盐胁迫下的萌发,为幼苗的正常生长发育奠定良好的基础。

关键词:水稻;预处理;种子萌发;盐胁迫;抗氧化

中图分类号:S511.032

文献标识码:A

文章编号:2096-5877(2023)05-0012-05

Effects of NaCl Pretreatments on the Characteristics of Seed Germination of Hybrid Rice under Salt Stress

LIU Shaohua, ZHU Xueshen, WANG Han, YAN Min

(School of Life Sciences, Chemistry and Chemical Engineering, Jiangsu Second Normal University, Nanjing 210013, China)

Abstract: The effects of NaCl pretreatments on germination percentage, germination energy, germination index and vigor index, malondialdehyde (MDA) content, activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT), ascorbate (AsA) and reduced glutathione (GSH) contents of hybrid rice Nanjing 9108 seeds under salt stress were studied. The results showed that, compared with the control group, the germination energy, germination rate, germination index and vigor index of seeds in 0.1% NaCl experimental group increased by 12.2%, 14.6%, 58.3% and 120.8%, the activities of SOD and CAT increased by 65.2% and 50.2%, and the contents of AsA and GSH increased by 113.2% and 47.1% under salt stress, respectively. And the differences between the control group and 0.1% NaCl experimental group reached a significant level ($P<0.05$). The POD activity was higher than that of the control group, but there was no significant difference. On the other hand, the above germination indexes, protective enzymes activities and protective agent contents in 0.2% NaCl experimental group were significantly lower than those in control group and 0.1% NaCl experimental group under salt stress, while MDA content was significantly higher than both of groups. These results indicated that 0.1% NaCl pretreatments maybe improve the antioxidant capacity of seeds during germination period, inhibited the excessive accumulation of lipid peroxidation products, and then promoting seed germination under salt stress, which laid a good foundation for the normal growth and development of seedlings.

Key words: *Oryza sativa* L.; Pretreatments; Seed germination; Salt stress; Antioxidant

收稿日期:2022-09-08

基金项目:国家自然科学基金项目(31700280);江苏省自然科学基金项目(BK20170756)

作者简介:刘少华(1975-),男,副教授,博士,主要从事植物逆境生理与生化研究。

种子萌发是作物生长的关键阶段之一,也是在作物整个生活史中对土壤盐分极为敏感的时期^[1-2]。土壤盐分主要通过渗透胁迫、离子毒性和氧化损伤等作用抑制种子萌发,从而降低出苗率,最终影响作物产量^[3-4]。因此,充分探讨种子萌发对土壤盐分的生理响应机制,提高盐地作物种子的萌发率,从而实现盐渍土壤条件下的农业生产具有十分重要的意义。大量研究表明,用外源性物质^[5-12]对种子进行预处理,可以激活种子体内的物质和能量代谢过程,改善种子在逆境条件下的萌发特性,加速种子发芽,提高种子发芽率和出苗率。但添加此类化学物质存在操作不便,成本较大,而且还可能造成环境污染的缺点^[13]。因此,直接用NaCl对种子进行预处理,提高作物抗盐能力的方法已引起很多研究者的关注。目前,该方法已在甜瓜^[14]、豌豆^[15]、番茄^[16]、向日葵^[17]等作物的研究中取得了较好的成效。笔者以往的研究结果也显示,与未预处理组相比,经过NaCl预处理的杂交稻种子,其幼苗的叶片和根部具有更高的抗氧化活性^[18-19],使幼苗对盐胁迫的抗性得到了增强。这必然与种子经NaCl预处理后引起的一系列生理生化反应存在某种联系,但其内在机制目前尚不清楚。本研究从NaCl预处理条件下种子的萌发特性和抗氧化活性等方面展开探讨,以期揭示种子预处理与幼苗生长发育的内在机制,为提高杂交稻种子的抗盐能力提供参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

杂交稻南粳9108种子由江苏省农业科学研究所粮食作物研究所惠赠。

1.2 试验方法

1.2.1 种子萌发

水选法除去干瘪籽粒和其他杂物后,用0.1%升汞将种子消毒10 min,蒸馏水冲洗5次,滤纸吸干表面水分。然后分别用蒸馏水(对照组CK),0.1% NaCl(T₁)以及0.2% NaCl(T₂)浸种24 h。之后将种子摆放在铺有干净湿毛巾的培养盆中(毛巾浸润各试验组对应的NaCl溶液)于室温下暗中催芽48 h。露白后将种子分成两部分,一部分种子直接用于测定各生理指标,另一部分继续培养,用于记录种子的发芽情况。

1.2.2 项目测定

(1)发芽指标的测定

参照赵肖琼等^[20]的方法并稍加修改。培养第一天

即开始记录发芽情况,4 d后测定发芽势,7 d后统计发芽率、发芽指数以及活力指数。计算公式分别为:

发芽势=(4 d内发芽种子总数/种子总数)×100%;发芽率=(7 d内发芽种子总数/种子总数)×100%;发芽指数 $G_i = \sum G_t / D_t$ (G_t 为第t天的发芽种子数, D_t 为发芽天数t);活力指数 $V_i = G_i \times S$ (S为幼苗生长势,以根长表示)。

(2)生理指标的测定

参照陈建勋等^[21]的方法测定萌发种子中蛋白质含量,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性,丙二醛(MDA)含量,抗坏血酸(AsA)、还原型谷胱甘肽(GSH)含量。

1.3 数据处理

运用Excel 2016与SPSS 13.0软件对相关数据进行整理、图表制作以及单因素方差分析和最小显著性差异法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 NaCl预处理对盐胁迫下杂交稻种子萌发特性的影响

由表1可知,随着NaCl浓度的升高,南粳9108种子的发芽势、发芽率、发芽指数与活力指数呈现先升后降的变化趋势。T₁组的种子各发芽指标表现最好,显著高于对照组和T₂组。T₂组的种子发芽势、发芽率、发芽指数与活力指数表现最差,显著低于对照组。结果表明,0.1% NaCl预处理可以促进杂交稻种子的萌发,而浓度过高则抑制萌发。

表1 NaCl预处理对盐胁迫下杂交稻种子萌发特性的影响

处理	发芽势(%)	发芽率(%)	发芽指数	活力指数
CK	74.00±2.45b	82.00±2.87b	24.00±1.67b	4.32±0.64b
T ₁	83.00±3.16a	94.00±1.70a	38.00±2.78a	9.53±0.43a
T ₂	47.00±2.13c	50.00±3.68c	17.00±1.12c	2.86±0.14c

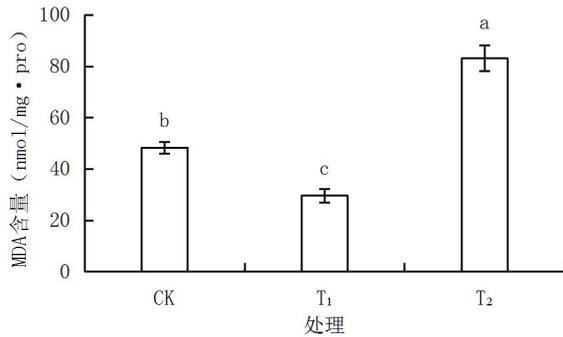
注:同列小写字母不同表示在0.05水平上差异显著

2.2 NaCl预处理对盐胁迫下杂交稻种子MDA含量的影响

图1结果显示,T₁组的MDA含量最低,T₂组最高。T₁组的MDA含量为29.6 nmol/mg·pro,是T₂组的35.6%,比对照组降低了38.7%。T₂组的MDA含量比对照组增加了41.9%,差异显著。结果表明,一定浓度的NaCl浸种预处理可以减弱盐胁迫造成的脂质过氧化损伤。

2.3 NaCl预处理对盐胁迫下杂交稻种子AsA含量的影响

由图2可知,各组萌发种子的AsA含量在不同浓



注:小写字母不同表示在0.05水平上差异显著,下同

图1 NaCl预处理对盐胁迫下种子MDA含量的影响

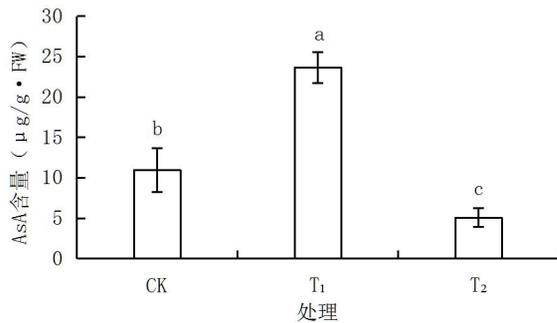


图2 NaCl预处理对盐胁迫下种子AsA含量的影响

度NaCl预处理下变化明显。T₁组的AsA含量最高,为23.7 μg/g·FW,分别是对照组和T₂组的2.1倍和4.6倍,与二者差异均达到显著水平。与对照组相比,T₂组的AsA含量显著降低,仅为对照组的45.9%。

2.4 NaCl预处理对盐胁迫下杂交稻种子GSH含量的影响

从图3结果可知,GSH含量的变化情况与AsA相似,随NaCl浓度的升高呈先增加后减少的趋势。T₁组的GSH含量为11.3 μg/g·FW,分别比对照组和T₂组增加了47.1%和182.6%,且与二者差异显著。T₂组的GSH含量为4.0 μg/g·FW,比对照组降低了48.6%,二者之间差异显著($P<0.05$)。

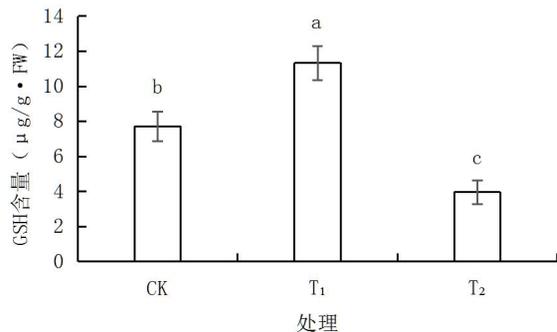


图3 NaCl预处理对盐胁迫下种子GSH含量的影响

2.5 NaCl预处理对盐胁迫下杂交稻种子萌发期SOD活性的影响

图4结果显示,不同浓度的NaCl浸种预处理

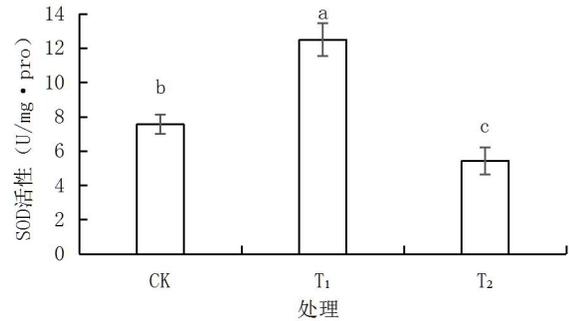


图4 NaCl预处理对盐胁迫下种子SOD活性的影响

对杂交稻萌发种子的SOD活性影响不同。T₁组的SOD活性最强,为12.5 U/mg·pro,分别比对照组和T₂组增加了65.2%和130.1%。T₂组的SOD活性最弱,为5.4 U/mg·pro,仅为对照组的71.8%,差异显著($P<0.05$)。

2.6 NaCl预处理对盐胁迫下杂交稻种子萌发期CAT活性的影响

如图5所示,CAT活性的变化趋势与SOD一致。T₁组的CAT活性最高,而T₂组则最低。T₁组的CAT活性为9.7 U/mg·pro,分别是对照组和T₂组的1.5倍和2.6倍。T₂组的CAT活性则比对照组降低了41.6%,差异显著($P<0.05$)。

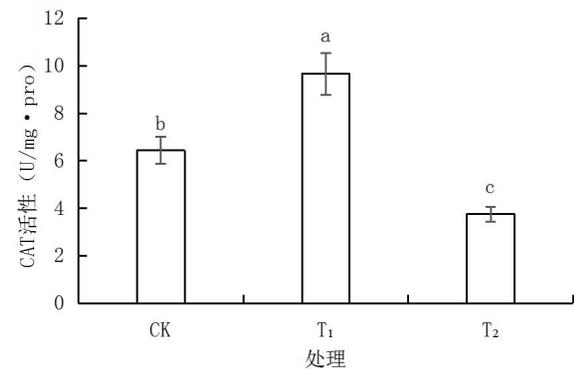


图5 NaCl预处理对盐胁迫下种子CAT活性的影响

2.7 NaCl预处理对盐胁迫下杂交稻种子萌发期POD活性的影响

从图6可以看出,POD活性的变化趋势与SOD及CAT相似,总体上是先升后降,但也有其自身的特点。T₁组的POD活性最高,但仅比对照组增加了1.5%,差异不显著。T₂组的POD活性最低,为62.9 U/mg·pro,分别是对照组和T₁组的72.3%和71.3%,与二者存在显著性差异($P<0.05$)。

3 讨论与结论

研究表明,种子的萌发活力与细胞膜结构的完整性密切相关。在盐胁迫等逆境条件影响下,

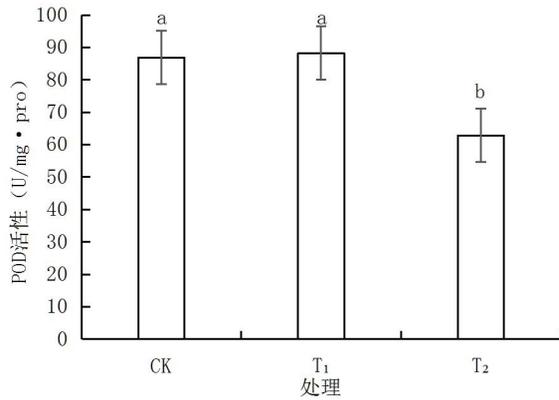


图6 NaCl预处理对盐胁迫下水稻种子POD活性的影响

膜结构的完整性会受损,使种子活力下降甚至丧失,进而抑制种子萌发^[22]。本研究中,0.1%NaCl(T₁组)预处理下,杂交稻南粳9108种子的萌发能力非但没有下降,反而得到了提高,其发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数均有不同程度的增加,与对照组的差异均达到显著水平($P<0.05$)。用0.2%NaCl(T₂组)对种子进行预处理时,其发芽能力则被抑制。发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数比对照组分别下降了39.7%、39.0%、29.2%和33.8%,差异性均达到了显著水平。另一方面,T₂组的上述四项指标与T₁组相比均有明显下降,其下降幅度基本达到或超过50%(表1)。研究结果表明,低浓度的NaCl预处理对盐胁迫下水稻9108种子的萌发能力有较大促进作用,而高浓度的NaCl浸种预处理则明显抑制种子的萌发。这与前人的研究结果一致^[17,23-24]。有研究认为,可能是因为低浓度的盐分促进了细胞膜的渗透调节,渗透调节越强,吸收外界水分的能力越强,对逆境胁迫的抗性就越强。也可能是因为微量的Na⁺刺激了细胞呼吸相关的酶活性^[25]。而高浓度的NaCl则破坏了细胞膜结构的完整性,使其选择透性降低甚至丧失,造成胞内离子失调,引起代谢紊乱。此外,高浓度的土壤盐分还可能引起细胞水分亏缺,使种子吸水困难,最终影响胚芽生长^[26]。其具体机制可能需要从分子水平上进行深入研究。

众所周知,盐胁迫等不良环境会引起植物体内活性氧(ROS)过量产生,进而导致细胞膜脂质过氧化反应,使细胞结构成分降解和损伤而破坏正常的细胞代谢^[27]。丙二醛(MDA)是脂质过氧化的主要产物,其含量的多少是衡量植物在逆境胁迫下氧化伤害程度大小的标志^[28]。体内MDA含量越高,生物膜系统受到的损伤越大;反之,则损伤越小。本研究中,0.1%NaCl预处理可以使盐胁迫

下水稻9108种子萌发过程中MDA含量大幅度降低(图2),且显著低于对照组和0.2%NaCl组。结果表明,0.1%NaCl预处理有效缓解了脂质过氧化所带来的损伤,从而增加了细胞膜结构的完整性和稳定性。这可能是低浓度NaCl预处理能提高盐胁迫下水稻种子发芽性能的原因之一。正常情况下,细胞内的ROS始终保持动态平衡,该平衡依赖于胞内保护系统的高效运行,包括SOD、POD、CAT等保护酶类和AsA、GSH等非酶类物质,该系统与植物的抗逆性密切相关^[29]。SOD是保护系统的第一道防线,也是活性氧清除的关键酶,主要作用是将超氧阴离子催化为过氧化氢,后者则被POD、CAT等转化为水和氧气,进而解除胞内活性氧自由基过度生成所带来的氧化损伤,提高生物体的抗逆性。本研究中,不同浓度NaCl预处理下水稻9108种子萌发过程中保护系统对盐胁迫的反应基本相似,即随NaCl预处理浓度的增大而呈先升高后下降的变化趋势。0.1%NaCl预处理下,萌发种子体内保护酶SOD、POD、CAT的活性最高,保护剂AsA、GSH的含量最多。除POD外,其余指标均显著高于对照组和T₂组。结果表明,0.1%NaCl预处理增强了种子保护系统的活性,有效降低盐胁迫引发ROS的过度积累,减轻细胞膜的脂质过氧化作用,最终促进了种子的抗盐萌发能力。而高浓度的NaCl预处理则削弱了SOD、POD、CAT的活性,降低了AsA、GSH的含量,使种子体内活性氧的动态平衡被打破,引起脂质过氧化反应加强,最终抑制了种子的抗盐萌发能力。这可以从MDA含量(图1)以及种子发芽状态(表1)的结果得到验证。本研究结果与施用其他外源物质“低浓度促进,高浓度抑制”的结果一致^[22,30-32],结果表明,用适宜浓度的NaCl预处理水稻种子,提高其幼苗抗盐胁迫能力的方法具有一定的实践意义。

总之,一定浓度的NaCl预处理能够通过调节种子保护酶的活性和保护剂的含量而调节脂质过氧化反应的强度,促进种子的发芽性能,进而提高作物幼苗在后期生长发育过程中对盐胁迫的抗性。

参考文献:

- [1] He J, Ren Y, Chen X, et al. Protective roles of nitric oxide on seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under cadmium stress[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2014, 108: 114-119.
- [2] Kataria S, Baghel L, Guruprasad K N. Pre-treatment of seeds with static magnetic field improves germination and early growth

- characteristics under salt stress in maize and soybean[J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2017(10): 83-90.
- [3] 王永娟,周 妍,金勇男,等. 不同类型盐胁迫及外源钙离子对玉米和大豆种子萌发特性的影响[J]. *吉林农业科学*, 2014, 39(4): 6-11.
- [4] Fang Y, Li J, Jiang J, et al. Physiological and epigenetic analyses of *Brassica napus* seed germination in response to salt stress [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2017, 39(6): 128.
- [5] Paul S, Roychoudhury A, Banerjee A, et al. Seed pretreatment with spermidine alleviates oxidative damages to different extent in the salt(NaCl)-stressed seedlings of three indica rice cultivars with contrasting level of salt tolerance [J]. *Plant Gene*, 2017(11): 112-123.
- [6] 赵 莹,杨克军,李佐同,等. 外源糖浸种缓解盐胁迫下玉米种子萌发[J]. *应用生态学报*, 2015, 26(9): 2735-2742.
- [7] 徐芬芬. PEG 预处理对水稻种子萌发期盐胁迫的缓解效应[J]. *杂交水稻*, 2013, 28(3): 72-74.
- [8] 杨洪兵. 外源有机酸对盐胁迫下荞麦种子萌发及幼苗生长的效应[J]. *吉林农业科学*, 2013, 38(4): 5-7.
- [9] 闫艳华. 水杨酸浸种对盐胁迫下燕麦种子萌发的影响[J]. *种子*, 2020, 39(1): 159-162.
- [10] 张丽丽,倪善君,张 战,等. 外源赤霉素对盐胁迫下水稻种子萌发及幼苗生长的缓释效应[J]. *中国稻米*, 2018, 24(2): 42-46.
- [11] 郭 伟,于立河. 腐植酸浸种对盐胁迫下小麦萌发种子及幼苗生理特性的影响[J]. *麦类作物学报*, 2012, 32(1): 90-96.
- [12] 庞春花,张 媛,李亚妮. 硝酸镧浸种对藜麦种子萌发及盐胁迫下幼苗生长的影响[J]. *中国农业科学*, 2019, 52(24): 4484-4492.
- [13] 刘良全,张水利,景小元,等. 几种化学调控物质对盐胁迫下小麦幼苗生长及生理指标的调控作用[J]. *麦类作物学报*, 2010, 30(1): 73-78.
- [14] Sivritepe N, Sivritepe H Ö, Türkan I, et al. NaCl pre-treatments mediate salt adaptation in melon plants through antioxidative system[J]. *Seed Science & Technology*, 2008, 36(2): 360-370.
- [15] Senturk B, Sivritepe H Ö. NaCl priming alleviates the inhibiting effect of salinity during seedling growth of peas (*Pisum sativum* L.) [J]. *Fresenius Environmental Bulletin*, 2016, 25(10): 4202-4208.
- [16] Cayuela E, Estañ M T, Parra M, et al. NaCl pre-treatment at the seedling stage enhances fruit yield of tomato plants irrigated with salt water [J]. *Plant and Soil*, 2001, 230(2): 231-238.
- [17] 颜 宏,赵 伟,孙玲玲. 水盐浸种对 NaCl 胁迫下向日葵幼苗渗透调节物质的影响[J]. *作物杂志*, 2013(3): 131-135.
- [18] 刘少华,王仁雷,刘 青,等. NaCl 预处理对高盐胁迫下两系杂交稻幼苗生长的影响[J]. *河南农业大学学报*, 2013, 47(2): 128-131, 137.
- [19] 刘少华,朱学伸,王 晗,等. NaCl 浸种对高盐胁迫下杂交稻幼苗根系活性氧代谢的影响[J]. *杂交水稻*, 2019(6): 75-80.
- [20] 赵肖琼,梁泰帅,张恒慧. 壳寡糖对 PEG 胁迫下小麦种子萌发、幼苗生长及渗透调节物质的影响[J]. *种子*, 2020, 39(2): 91-95.
- [21] 陈建勋,王晓峰. *植物生理学实验指导*[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2015: 24-77.
- [22] 杨俊年,胡廷章,刘仁华,等. 盐胁迫对两种杂交水稻萌芽中酶活性的影响[J]. *吉林农业科学*, 2014, 39(1): 25-29.
- [23] 谢德意,王惠萍,王付欣,等. 盐胁迫对棉花种子萌发及幼苗生长的影响[J]. *中国棉花*, 2000, 29(2): 12-13.
- [24] 沈振荣,杨万仁,徐秀梅. 不同盐分胁迫对苜蓿种子萌发的影响[J]. *种子*, 2002, 25(4): 34-37.
- [25] 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, 27(1): 67-69.
- [26] 程大友,张 义,陈 丽. 氯化钠胁迫下甜菜种子的萌发[J]. *中国糖料*, 1996(2): 21-23.
- [27] Parida A K, Das A B, Mohanty P. Defence potentials to NaCl in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: Differential changes of isoforms of some antioxidative enzymes[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2004, 161(5): 531-542.
- [28] Ahmad P, Hasherm A, Asd-allah E F, et al. Role of trichoderma harzianum in mitigating NaCl stress in Indian mustard (*Brassica juncea* L.) through antioxidative defense system[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015(6): 1-15.
- [29] 李雪梅,张利红,何兴元,等. 增强 UV-C 辐射作用下小麦和豌豆幼苗光合响应及其相对抗性[J]. *应用生态学报*, 2007, 18(3): 641-645.
- [30] 王俊斌,王海凤,刘海学. 水杨酸促进盐胁迫条件下水稻种子萌发的机理研究[J]. *华北农学报*, 2012, 27(4): 223-227.
- [31] Ali Q, Daud M K, Haider M Z, et al. Seed priming by sodium nitroprusside improves salt tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) by enhancing physiological and biochemical parameters [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2017, 119: 50-58.
- [32] 徐芬芬,徐 鹏,胡志涛,等. 外源过氧化氢对盐胁迫下水稻幼苗根系生长和抗氧化系统的影响[J]. *杂交水稻*, 2017, 32(1): 74-77.

(责任编辑:范杰英)