

外源 NO 对 NaCl 胁迫下水飞蓟种子萌发和幼苗生长生理的影响

张晓倩, 王康才*, 张彦南, 王 乾, 崔志伟

南京农业大学园艺学院, 江苏 南京 210095

摘 要: 目的 研究外源 NO 对 NaCl 胁迫下水飞蓟种子萌发、幼苗生长生理的影响。方法 用 0.05~0.60 mmol/L 亚硝基铁氰化钠 (SNP) 溶液浸种, 在 0.7% NaCl 胁迫下发芽, 观察种子发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数。并观察幼苗生长情况, 检测叶片中丙二醛 (MDA)、光合色素和渗透性物质质量, 以及保护酶活性。结果 0.7% NaCl 胁迫下, 水飞蓟种子萌发和幼苗生长受到显著抑制, 用 0.05~0.60 mmol/L SNP 溶液浸种能促进水飞蓟种子萌发和幼苗生长, 降低叶片中 MDA 量, 增加光合色素 (叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总量和类胡萝卜素) 和渗透性物质 (可溶性糖、可溶性蛋白和脯氨酸) 量, 提高保护酶 [超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 和过氧化氢酶 (CAT)] 活性。结论 0.05~0.60 mmol/L SNP 浸种能提高水飞蓟种子和幼苗的抗盐能力。不同栽培类型水飞蓟对 SNP 敏感度不同, 其中, 0.10 mmol/L SNP 对白色种皮处理效果最好; 0.40 mmol/L SNP 对黑色种皮处理效果最好。

关键词: 水飞蓟; 亚硝基铁氰化钠; NaCl 胁迫; 种子萌发; 生长生理

中图分类号: R282.21

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2013)22-3216-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.22.022

Effects of exogenous nitric oxide on physiology of seed germination and seedling growth of *Silybum marianum* under NaCl stress

ZHANG Xiao-qian, WANG Kang-cai, ZHANG Yan-nan, WANG Qian, CUI Zhi-wei

College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of exogenous nitric oxide (NO) on the physiology of the seed germination and seedling growth of *Silybum marianum* under NaCl stress. **Methods** The seeds of *S. marianum* were treated by sodium nitro prusside (SNP) at the concentration of 0.05—0.60 mmol/L under 0.7% NaCl stress. Some physiological indexes were measured, such as germination energy, germination rate, germination index, and vigor index of the seeds, and contents of malondialdehyde (MDA), photosynthetic pigment, osmosis substances, and the activities of the protective enzymes in leaves. **Results** The seed germination and seedling growth of *S. marianum* were obviously inhibited under NaCl stress. Soaking seeds with 0.05—0.60 mmol/L SNP could alleviate the damage of NaCl stress. Under this treatment, the contents of photosynthetic pigment (including chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, and carotenoid) and osmosis substances (including soluble sugar, soluble protein, and proline), and the activities of protective enzymes (including SOD, POD, and CAT) in the leaves were significantly increased, while the MDA content in the leaves was decreased. **Conclusion** Soaking seeds with 0.05—0.60 mmol/L SNP could promote the salt resistance of the seeds and seedlings of *S. marianum*. The different cultivars of *S. marianum* differ in the sensitivity to SNP. The optimal concentration of SNP for the seed soaking of *S. marianum* with white and black skins is 0.10 and 0.40 mmol/L, respectively.

Key words: *Silybum marianum* (L.) Gaertn.; sodium nitro prusside; NaCl stress; seed germination; growth physiology

作为植物体内一种关键的信号分子, NO 广泛参与植物生长发育及逆境适应等多种生理过程的信号转导。其对植物的作用具有双重性, 表现为低浓度促进高浓度抑制^[1]。适宜浓度的 NO 能促进种子

的萌发和植物生长, 延缓叶片、花和果实衰老, 诱导程序性细胞死亡和防御相关基因的表达^[2]。我国的盐渍土面积约 $1 \times 10^8 \text{ hm}^2$ ^[3], 土壤盐渍化是影响农业生产、生态环境以及可持续发展的严重问题^[4]。

收稿日期: 2013-07-17

基金项目: 江苏省镇江市农业支持项目 (R0201100292); 南京农业大学 SRT 资金支持项目 (1114A15)

作者简介: 张晓倩 (1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为药用植物栽培与生理。Tel: 15850594804 E-mail: 2011104182@njau.edu.cn

*通信作者 王康才, 教授。Tel: (025)84396081 E-mail: wangkc@njau.edu.cn

提高植物耐盐性是克服土壤盐渍化的一条重要途径。近期研究表明, NO 可调节盐胁迫下植物体内超氧化物的形成, 抑制脂质过氧化, 提高植物的抗盐性。如提高盐胁迫下水稻种子早期的发芽率和发芽指数^[5], 缓解盐胁迫对玉米生长的抑制作用^[6]。但是外源 NO 在植物盐胁迫中的研究多以大田作物及蔬菜为材料, 在药用植物上少有报道。

水飞蓟为菊科水飞蓟属植物水飞蓟 *Silybum marianum* (L.) Gaertn. 的干燥成熟果实^[7]。其主要有效成分为水飞蓟素^[8]。现代药理研究表明, 水飞蓟素具有稳定和保护肝细胞膜、改善肝功能、防治糖尿病和保护心肌细胞等功能, 近年来得到广泛应用, 需求量日益增加。目前关于水飞蓟的研究主要集中在化学成分和药理作用等方面, 关于其胁迫生理尚无人研究。基于以上因素, 本实验研究外源 NO 浸种对 NaCl 胁迫下的水飞蓟种子萌发和幼苗生长生理的影响, 初步了解外源 NO 对盐胁迫下植物的缓解调节机制, 确定外源 NO 浸种的最佳浓度, 为改善土壤盐渍化提供理论依据和解决方法。

1 材料

收集江苏水飞蓟种植产区不同栽培类型水飞蓟的干燥成熟果实, 选育得到黑色种皮 (SD) 和白色种皮 (HW) 2 个不同栽培类型水飞蓟。经南京农业大学园艺学院中药系王康才教授鉴定为菊科植物水飞蓟 *Silybum marianum* (L.) Gaertn. 的果实。

2 方法

2.1 试验设计

水飞蓟种子发芽试验在光照培养箱中进行 (温度 25 ℃)。选用饱满、大小一致的种子, 1% NaClO 消毒 15 min, 无菌水反复冲洗后, 用 0.05、0.10、0.20、0.40、0.60 mmol/L 亚硝基铁氰化钠 (SNP) 溶液浸种 24 h, 以清水浸种为空白对照 (CK₁), 0.7% NaCl 浸种为盐对照 (CK₂)。置于铺有两层滤纸的培养皿 (直径 10 cm) 中, CK₁ 加 8 mL Hoagland 营养液, 其他处理各加入 8 mL 用 Hoagland 营养液配制的 0.7% NaCl 溶液, 每隔 2 d 换 1 次处理液。每处理 30 粒种子, 重复 5 次。观察、记录发芽情况, 测定种子萌发指标。

萌发试验结束后将萌发的种子按照以上处理分别播在花盆中, 盆栽基质为石英砂和蛭石按 1:2 混匀。待出苗后, CK₁ 用 Hoagland 营养液浇灌, 其他处理用 Hoagland 营养液配制的 0.7% NaCl 溶液浇灌, 每 7 天浇 1 次, 每次 1.0 L。期间用称质量法补

充相应的水分。第 5 次处理后的第 4 天开始测定幼苗生长指标及叶片中相关生理指标。

2.2 种子萌发指标的测定

对种子萌发的各项指标进行测定。

$$\text{发芽率} = n_{10}/N$$

n_{10} 为第 10 天累积发芽种子数, N 为供试种子总数

$$\text{发芽势} = n_5/N$$

n_5 为第 5 天累积发芽种子数, N 为供试种子总数;

$$\text{相对盐害率} = \text{处理萌芽率} - \text{对照萌芽率} / \text{对照萌芽率}$$

$$\text{发芽指数} (Gi) = \sum Gt/Dt$$

Gt 为在时间 t 日的发芽数, Dt 为萌芽日数;

$$\text{活力指数} = S \times Gi$$

S 为平均根长, Gi 为发芽指数

2.3 幼苗生长指标的测定

随机选取 20 株幼苗, 用自来水快速洗净, 再用吸水纸吸干表面水分, 立即称鲜质量, 测量根长、芽长。后将新鲜材料置 105 ℃ 烘箱中杀青 10 min, 转至 60 ℃ 烘干, 称干质量。

2.4 幼苗相关生理指标的测定

随机选取各处理生长部位一致的新鲜叶片测定。叶绿素量采用 95% 乙醇丙酮浸提法测定; 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性采用氮蓝四唑法测定; 过氧化物酶 (POD) 活性采用愈创木酚法测定; 过氧化氢酶 (CAT) 活性采用高锰酸钾滴定法测定; 游离脯氨酸量采用磺基水杨酸法测定; 可溶性糖量采用蒽酮比色法测定; 可溶性蛋白质量采用 Folin 酚法测定; 丙二醛 (MDA) 量采用硫代巴比妥酸 (TBA) 法测定^[9]。

2.5 数据处理

数据用 Excel2003 和 SPSS17.0 软件进行整理并统计分析。

3 结果与分析

3.1 SNP 浸种对 NaCl 胁迫下水飞蓟种子萌发的影响

0.7% NaCl 胁迫下, 水飞蓟的发芽率和发芽势均比 CK₁ 显著降低, 导致盐害指数显著增加; 经 0.05~0.60 mmol/L SNP 溶液处理后, 发芽率和发芽势均比 CK₂ 有不同程度的增加, 且随浓度的升高呈现先增加后降低的趋势, 而盐害指数比 CK₂ 显著降低 (表 1)。其中, HW 在 SNP 浓度为 0.10 mmol/L 时, 处理效果最好, 发芽率和发芽势分别比 CK₂ 增加了 34.3% 和 23.5%, 发芽率与 CK₁ 无显著差异。SD 在 SNP 浓度为 0.40 mmol/L 时, 处理效果最好, 发芽率和发芽势分别比 CK₂ 增加了

42.2%和 90.5%，发芽势与 CK₁ 无明显差异。

发芽指数和活性指数的变化趋势与发芽率的变化趋势相似，即 0.7% NaCl 胁迫下，发芽指数和活力指数均比 CK₁ 显著降低，经 0.05~0.60 mmol/L SNP 溶液处理后，发芽指数和活力指数均比 CK₂ 明显增加，且随浓度的升高呈现先增加后降低的趋势（表 1）。发芽指数和活力指数是种子发芽能力和幼苗长势的综合指标，这说明 SNP 溶液处理能提高水飞蓟种子的发芽速度和整齐度。其中，当 SNP 浓度为 0.10 mmol/L 时，对 HW 处理效果最明显，发芽指数和活力指数分别比 CK₂ 增加了 37.5%和 230.0%；当 SNP 浓度为 0.4

mmol/L 时，对 SD 处理效果最明显，发芽指数和活力指数分别比 CK₂ 增加了 58.1%和 223.3%。

3.2 SNP 浸种对 NaCl 胁迫下水飞蓟幼苗生长的影响

结果（表 2）表明，0.7% NaCl 胁迫下，水飞蓟幼苗的根长、叶长、鲜质量和干质量均比 CK₁ 显著降低，经 0.05~0.60 mmol/L SNP 溶液处理后，各指标均比 CK₂ 显著增加，且随浓度升高呈现先增加后降低的趋势。其中，HW 在 SNP 浓度为 0.10 mmol/L 时，各指标增幅最大，分别比 CK₂ 增加了 130.6%、45.6%、122.0%和 17.3%。SD 在 SNP 浓度为 0.40 mmol/L 时，各指标增幅最大，分别比 CK₂ 增加了 186.3%、50.8%、151.1%和 35.4%，根长和干质量与 CK₁ 无显著差异。

表 1 不同处理下水飞蓟种子萌发情况 ($n=5$)

Table 1 Seed germination of *S. marianum* by various treatments ($n=5$)

SNP 浓度 / (mmol·L ⁻¹)	栽培类型	发芽率 / %	发芽势 / %	盐害指数 / %	发芽指数	活力指数
0.05	HW	65.8±3.19 cd	60.0±4.71 d	22.6±3.76 bc	17.5±0.88 de	76.5±3.85 e
	SD	59.2±3.19 d	40.0±4.71 e	26.8±3.95 b	15.1±1.20 d	48.5±3.86 f
0.10	HW	81.7±1.92 a	70.0±2.72 b	3.9±2.26 e	21.7±1.05 b	172.6±8.37 b
	SD	64.2±3.19 c	47.5±1.67 d	20.6±3.95 c	17.4±1.22 c	70.0±4.90 e
0.20	HW	75.0±3.33 b	65.8±3.19 bc	11.8±3.92 d	19.5±0.99 c	127.0±6.42 c
	SD	72.5±1.67 b	62.5±4.19 bc	10.3±2.06 d	21.1±1.17 b	113.0±6.27 c
0.40	HW	68.3±3.33 c	61.7±4.30 cd	19.6±3.92 c	18.3±0.78 cd	104.1±4.46 d
	SD	75.8±1.67 b	66.7±2.72 ab	6.2±2.06 d	22.3±1.45 b	132.7±8.62 b
0.60	HW	62.5±1.67 de	58.3±4.30 d	26.5±1.96 ab	16.0±1.26 ef	79.7±6.29 e
	SD	67.5±3.19 c	57.5±3.19 c	16.5±3.95 c	20.7±1.71 b	103.0±8.49 d
CK ₁	HW	85.0±1.92 a	76.7±2.72 a	0 e	26.1±1.00 a	235.1±8.97 a
	SD	80.8±4.19 a	70.8±6.31 a	0 e	24.4±0.95 a	150.0±5.85 a
CK ₂	HW	60.8±3.19 e	56.7±4.71 d	28.4±3.76 a	15.8±0.99 f	52.3±3.28 f
	SD	53.5±3.85 e	35.0±4.30 e	34.0±4.76 a	14.1±1.32 d	41.0±3.85 f

不同小写字母表示差异达 0.05 显著水平（表 1~5 同）

Different lowercase letters indicate the significant difference at 0.05 level (same as Tables 1—5)

表 2 不同处理下水飞蓟幼苗生长情况 ($n=20$)

Table 2 Seedling growth of *S. marianum* by various treatments ($n=20$)

SNP 浓度 / (mmol·L ⁻¹)	栽培类型	根长 / cm	叶长 / cm	鲜质量 / g	干质量 / g
0.05	HW	8.750±1.042 d	12.850±1.681 d	10.270±0.872 e	1.550±0.144 cd
	SD	4.310±0.854 e	8.360±1.039 e	3.410±0.944 e	1.180±0.249 bc
0.10	HW	10.840±1.070 b	16.210±1.931 b	21.470±1.183 b	1.740±0.141 ab
	SD	5.090±0.872 d	9.190±1.625 de	4.370±1.011 d	1.220±0.256 bc
0.20	HW	9.830±1.223 c	14.110±1.949 c	19.000±1.841 c	1.660±0.156 bc
	SD	6.500±0.905 c	9.860±0.737 cd	5.660±1.024 c	1.310±0.147 b
0.40	HW	9.370±1.436 cd	10.800±1.834 e	18.320±1.585 c	1.590±0.379 cd
	SD	8.990±0.901 a	11.130±1.739 b	6.420±0.588 b	1.470±0.221 a
0.60	HW	7.910±0.832 e	7.930±1.801 f	16.590±1.506 d	1.510±0.136 d
	SD	7.680±0.874 b	10.270±1.711 c	5.360±0.883 c	1.270±0.127 b
CK ₁	HW	11.780±1.682 a	18.920±1.989 a	28.710±2.541 a	1.810±0.101 a
	SD	9.560±0.954 a	12.830±1.160a	7.270±1.073 a	1.510±0.229 a
CK ₂	HW	7.450±1.094 e	6.460±1.921 g	9.670±1.164 e	1.480±0.143 d
	SD	3.140±0.668 f	7.380±1.297 f	2.780±0.572 e	1.080±0.239 c

3.3 SNP 浸种对 NaCl 胁迫下水飞蓟幼苗叶片中光合色素量的影响

由表 3 可知, 0.7% NaCl 盐胁迫下, 水飞蓟幼苗叶片中叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素和类胡萝卜素量比 CK₁ 显著降低, 经 0.05~0.60 mmol/L SNP 溶液处理后, 各种光合色素量比 CK₂ 有不同程度的增加,

且随浓度的升高呈现先增加后降低的趋势。HW 在 SNP 浓度为 0.10 mmol/L 时, 处理效果最好, 分别比 CK₂ 增加了 72.3%、49.4%、65.0%和 98.3%。SD 在 SNP 浓度为 0.40 mmol/L 时, 处理效果最好, 分别比 CK₂ 增加了 44.1%、64.2%、49.3%和 79.8%, 与 CK₁ 无显著差异。

表 3 不同处理下水飞蓟幼苗叶片中光合色素量变化 (n = 3)

Table 3 Changes of photosynthetic pigment contents in leaves of *S. marianum* by various treatments (n = 3)

SNP 浓度 / (mmol·L ⁻¹)	栽培类型	质量分数 / (mg·g ⁻¹)			
		叶绿素 a	叶绿素 b	总叶绿素	类胡萝卜素
0.05	HW	0.410±0.005 e	0.180±0.002 c	0.590±0.005 e	0.049±0.005 d
	SD	0.390±0.014 cd	0.150±0.015 d	0.540±0.029 e	0.039±0.003 d
0.10	HW	0.480±0.006 b	0.210±0.001 a	0.720±0.011 b	0.074±0.002 b
	SD	0.410±0.002 c	0.180±0.006 c	0.590±0.006 d	0.042±0.003 cd
0.20	HW	0.470±0.010 c	0.200±0.005 b	0.660±0.015 c	0.062±0.006 c
	SD	0.480±0.010 b	0.190±0.010 bc	0.670±0.020 c	0.049±0.003 cd
0.40	HW	0.440±0.009 d	0.180±0.001 c	0.690±0.007 d	0.052±0.009 d
	SD	0.530±0.010 a	0.210±0.001 ab	0.740±0.010 ab	0.065±0.004 ab
0.60	HW	0.400±0.009 e	0.170±0.012 d	0.570±0.020 f	0.039±0.001 e
	SD	0.500±0.010 b	0.200±0.001 bc	0.700±0.010 bc	0.055±0.022 bc
CK ₁	HW	0.510±0.006 a	0.220±0.005 a	0.700±0.011 a	0.095±0.006 a
	SD	0.540±0.003 a	0.220±0.011 a	0.760±0.008 a	0.071±0.002 a
CK ₂	HW	0.300±0.003 f	0.140±0.005 e	0.430±0.008 g	0.037±0.001 e
	SD	0.370±0.034 d	0.130±0.018 d	0.500±0.050 e	0.036±0.002 d

3.4 SNP 浸种对 NaCl 胁迫下水飞蓟幼苗叶片中抗氧化酶活性及 MDA 量的影响

由表 4 可知, 3 种酶活性变化趋势相似。在 0.7% NaCl 胁迫下, 水飞蓟幼苗叶片中 SOD 活性比 CK₁ 显著增加, 以此减轻胁迫对植物造成的伤害, 而 POD 和 CAT 活性稍有降低, 可能因为盐胁迫超过了这 2 种酶的忍耐程度。经 0.05~0.60 mmol/L SNP 溶液处理后, 3 种酶活性均比 CK₂ 显著增加, 且随浓度的升高呈现先增高后降低的趋势。当 SNP 浓度为 0.10 mmol/L 时, HW 幼苗叶片中 3 种酶活性均达到最大值, 分别比 CK₂ 增加了 62.4%、46.5%和 226.4%。当 SNP 浓度为 0.40 mmol/L 时, SD 幼苗叶片中 3 种酶活性均达到最大值, 分别比 CK₂ 增加了 73.5%、60.5%和 224.6%。以上结果表明, SNP 可以通过提高盐胁迫下水飞蓟幼苗抗氧化酶活性, 特别是 CAT 活性来抵抗多余的活性氧, 减轻胁迫对植物造成的伤害。

在 0.7% NaCl 胁迫下, 水飞蓟幼苗叶片中 MDA 量急剧增加, HW 和 SD 分别比 CK₁ 增加了 236.5%和 259.3%, 经 0.05~0.60 mmol/L SNP 溶液处理后, MDA 量与 CK₂ 相比明显下降, 且随浓度的升高呈现先降低后增加的趋势。当 SNP 浓度为 0.10 mmol/L 时, 对 HW 的处理效果最好, 比 CK₂ 降低了 64.8%, 和 CK₁ 无显著差异。当浓度为 0.40 mmol/L 时, 对 SD 的处理效果最好, 比 CK₂ 降低了 66.2%, 和 CK₁ 无显著差异 (表 4)。

3.5 SNP 浸种对 NaCl 胁迫下水飞蓟幼苗叶片渗透性物质质量的影响

0.7% NaCl 胁迫下, 水飞蓟幼苗叶片中 3 种渗透性物质质量显著增加, HW 和 SD 分别比 CK₁ 增加了 26.6%、19.7%、141.5; 55.1%、26.8%和 177.6%, 经 0.05~0.60 mmol/L SNP 溶液处理后, 3 种渗透性物质质量与 CK₂ 相比有不同程度的增加, 且随浓度的升高呈现先增加后降低的趋势 (表 5)。HW 在 SNP 浓度为

表4 不同处理下水飞蓟幼苗叶片中抗氧化酶活性及MDA量变化 ($n=3$)Table 4 Changes of anti-oxidative enzyme activity and MDA content in leaves of *S. marianum* by various treatments ($n=3$)

SNP 浓度 / (mmol·L ⁻¹)	栽培类型	SOD 活性 / (U·g ⁻¹)	POD 活性 / (U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	CAT 活性 / (U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	MDA 量 / (μmol·g ⁻¹)
0.05	HW	140.400±6.840 e	192.160±6.023 e	16.580±1.279 d	10.390±1.810 b
	SD	135.020±4.224 d	207.160±7.789 d	18.263±0.945 d	12.990±1.669 ab
0.10	HW	194.490±5.471 a	267.860±5.106 a	35.230±2.459 a	4.370±0.321 d
	SD	163.590±8.597 c	248.070±5.969 c	22.260±0.385 c	11.990±1.164 b
0.20	HW	185.340±3.780 b	254.130±7.340 b	29.250±1.880 b	5.930±0.615 c
	SD	189.350±12.534 b	286.880±12.702 c	29.080±3.620 b	8.510±1.309 c
0.40	HW	173.440±6.274 c	228.070±4.068 c	25.610±0.434 c	7.140±0.606 c
	SD	213.800±4.878 a	303.550±8.333 a	37.670±1.056 a	4.840±0.384 de
0.60	HW	151.980±1.800 d	210.490±9.327 d	19.920±2.185 d	10.720±1.342 b
	SD	180.400±2.344 b	244.730±2.643 c	25.380±1.038 c	6.810±0.570 cd
CK ₁	HW	77.950±4.905 g	157.080±4.099 f	12.600±1.924 e	3.680±0.173 d
	SD	108.160±0.618 e	199.190±2.886 de	14.930±0.600 e	3.990±0.915 e
CK ₂	HW	119.730±1.968 f	182.790±3.568 e	10.790±1.442 e	12.390±0.190 a
	SD	123.240±3.11 d	189.180±1.041 e	11.606±1.842 f	14.330±0.940 a

表5 不同处理下水飞蓟幼苗叶片中渗透性物质质量变化 ($n=3$)Table 5 Changes of osmotic substance contents in leaves of *S. marianum* by various treatments ($n=3$)

SNP 浓度 / (mmol·L ⁻¹)	栽培类型	可溶性糖量 / (mg·g ⁻¹)	可溶性蛋白 / (mg·g ⁻¹)	脯氨酸量 / (μg·g ⁻¹)
0.05	HW	4.910±0.078 b	16.830±1.718 cd	9.370±0.720 c
	SD	4.610±0.455 d	17.390±1.366 bc	9.730±0.991 cd
0.10	HW	6.740±0.578 a	21.580±1.569 a	15.040±0.803 a
	SD	6.240±0.301 c	18.730±1.676 abc	11.060±0.195 c
0.20	HW	5.910±0.778 a	19.120±0.994 b	10.710±1.028 b
	SD	8.800±0.551 b	20.060±1.039 abc	13.980±1.155 b
0.40	HW	4.780±0.818 b	17.940±1.502 bc	9.630±0.945 c
	SD	10.470±0.977 a	23.060±3.768 ab	16.980±0.734 a
0.60	HW	4.450±0.241 b	15.690±1.291 d	7.970±0.474 d
	SD	8.000±1.344 b	21.060±2.605 a	15.350±0.970 b
CK ₁	HW	3.380±0.026 c	12.500±0.675 e	3.160±0.099 e
	SD	2.480±0.164 e	12.640±1.055 d	3.270±0.054 e
CK ₂	HW	4.280±0.145 b	14.960±0.124 d	7.630±0.126 d
	SD	3.840±0.140 d	16.030±2.285 cd	9.060±0.195 d

0.10 mmol/L 时, 幼苗叶片中 3 种渗透性物质达到最大值, 分别比 CK₂ 增加了 57.5%、44.3%和 97.0%。SD 在 SNP 浓度为 0.40 mmol/L 时, 3 种渗透性物质达到最大值, 比 CK₂ 增加了 172.4%、43.9%和 87.4%。

4 讨论

4.1 SNP 浸种对 NaCl 胁迫下水飞蓟种子萌发的影响

作为植物繁殖体, 种子萌发率高低、萌发速度快慢和出苗整齐度与产量有密切关系。因此, 植物

种子耐盐性是耐盐植物筛选与早期鉴定的主要依据之一。NO 可提高盐胁迫下种子的通透性^[10], 促进种子吸胀, 提高 α-淀粉酶活性, 加速胚乳淀粉的降解^[11], 从而提高种子发芽率。SNP 是一种重要的 NO 供体, Delledonne 等^[12]证明 0.50 mmol/L 的 SNP 约能产生 2.00 μmol/L 的 NO。张春平等^[13]报道 SNP 处理可以提高紫苏种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数。本研究也发现, 在 0.7% NaCl 胁迫

下,水飞蓟种子萌发相关指标(发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数)受到明显抑制;0.05~0.60 mmol/L SNP 溶液处理对 NaCl 胁迫下种子的萌发相关指标有明显的促进作用,提高种子的发芽速度和整齐度,且表现为低浓度促进高浓度抑制,和 Beligni 等^[1]的研究结果一致。不同栽培类型水飞蓟对 NO 的敏感性不同,当浓度为 0.10 mmol/L 时,对 HW 的促进作用最大;当浓度为 0.40 mmol/L 时,对 SD 的促进作用最大。

4.2 SNP 浸种对 NaCl 胁迫下水飞蓟幼苗生长的影响

植物在幼苗时期对盐分最敏感,幼苗能否顺利度过成熟期是盐胁迫下植物生长发育的关键。NO 参与植物的多种生理过程,如种子萌发、根和叶的生长发育、抗病及胁迫响应等。刘开力等^[14]在水稻上的研究表明,SNP 处理可以提高盐胁迫下水稻幼苗的株高、根长、鲜质量和干质量。吴雪霞等^[15]在番茄中的研究也发现,SNP 处理能使盐胁迫下番茄幼苗的地上部分和根系干质量增加。本实验研究结果表明,0.7% NaCl 胁迫下水飞蓟幼苗的生长受到抑制,根长、叶长、鲜质量和干质量比正常生长显著降低;而 0.05~0.60 mmol/L SNP 溶液处理对 NaCl 胁迫下水飞蓟幼苗具有明显的保护作用,能够减轻盐胁迫对水飞蓟幼苗生长的抑制效应。当 SNP 浓度为 0.1 mmol/L 时,对 HW 的处理效果最好;当浓度为 0.4 mmol/L 时,对 SD 的处理效果最好。

4.3 SNP 浸种对 NaCl 胁迫下水飞蓟幼苗生理生化影响

盐胁迫下植物往往发生膜脂过氧化作用,MDA 是膜脂过氧化的主要产物之一,其量多少可代表膜损伤的严重程度。NO 作为一种信号调节分子和活性氧清除剂,可以减少各种胁迫下植物体内 ROS 的积累,缓解各种胁迫造成的氧化损伤,增强植物的适应能力^[16]。陈明等^[17]在小麦的研究中发现,NO 能有效缓解盐胁迫下小麦幼苗根尖细胞的氧化损伤,降低 MDA 的积累。本实验研究发现,0.7% NaCl 胁迫会使水飞蓟幼苗受到严重伤害,叶片中 MDA 量急剧增加,0.05~0.60 mmol/L SNP 溶液处理能明显降低叶片中 MDA 量,证实了外源 NO 可以缓解盐胁迫下水飞蓟幼苗叶片的膜脂过氧化。

盐胁迫下植物叶片中叶绿素量下降,主要是由于 NaCl 促进叶绿素酶活性,使叶绿素降解;另外,NaCl 胁迫会使类胡萝卜素量降低,减少了对活性氧的淬灭,导致细胞内积累较多的氧自由基,破坏叶

绿体膜结构,加速叶绿素的分解。研究表明,盐胁迫下,小麦、黄瓜和番茄幼苗叶片中叶绿素量降低,而 NO 可以明显缓解盐胁迫下小麦、黄瓜和番茄叶片中叶绿素的降解^[15,18-19]。本实验结果表明,0.7% NaCl 胁迫下,水飞蓟幼苗叶片中叶绿素量明显降低;0.05~0.60 mmol/L SNP 溶液处理能提高盐胁迫下水飞蓟幼苗叶片中叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素量,此外,还能提高类胡萝卜素的量,而类胡萝卜素能够清除植物体内多余的自由基,提高植物耐盐性。

NO 对含铁的相关酶类有很高的亲和性,可通过调节 CAT 等含血红素铁的酶类活性和抑制含非血红素铁的顺乌头酸酶等靶酶的活性而参与植物体内一系列代谢调节过程^[20]。NO 对盐胁迫下番茄幼苗叶片膜脂过氧化和保护酶系统的影响研究表明,NO 能使盐胁迫下番茄叶片中保护酶(SOD, POD, CAT)活性显著上升^[15]。在小麦和黄瓜的研究中也有相同结果^[18-19]。本实验研究结果表明,0.7% NaCl 胁迫下,水飞蓟幼苗叶片中 SOD 活性增强,因胁迫超过植物自身忍耐程度,POD 和 CAT 活性比正常生长有所降低;0.05~0.60 mmol/L SNP 溶液处理后,水飞蓟幼苗叶片中 3 种酶活性均比盐胁迫下显著增强。

盐胁迫下,植物细胞质中往往会合成一些有机物来平衡液泡膜两侧的水势,主要有可溶性糖、可溶性蛋白和游离脯氨酸等。此外,可溶性糖和可溶性蛋白还具有保护酶活的作用,脯氨酸还具有清除 ROS、防止细胞脱水及解除氨毒害等作用。吴雪霞等^[15]研究表明,NO 处理可以提高番茄幼苗体内脯氨酸和可溶性糖量,增强植物的渗透能力。刘开力等^[21]研究外源 NO 对盐胁迫下水稻根部脂质过氧化的缓解作用中发现,NO 可以显著提高可溶性蛋白量,来缓解氧化损伤。本实验结果表明,0.7% NaCl 胁迫下,水飞蓟幼苗叶片中可溶性糖、可溶性蛋白和脯氨酸量显著增加;0.05~0.60 mmol/L SNP 溶液处理后,幼苗叶片中 3 种渗透性物质均比盐胁迫下明显增加。

外源 NO 处理可明显提高 NaCl 胁迫下水飞蓟幼苗生长、叶片中光合色素量,并降低 MDA 量。其机制可从酶促和非酶促两方面来解释。从酶促机制看,外源 NO 能诱导 SOD、POD、和 CAT 活性增强,通过降低内源 ROS 水平而间接缓解膜脂的过氧化。从非酶促机制看,外源 NO 能增加胁迫条件

下叶片中类胡萝卜素的量,还能促进可溶性糖、可溶性蛋白和脯氨酸的积累。这样既可淬灭自由基,也可提高细胞内渗透调节物质质量,提高保水能力,缓解膜脂过氧化。然而,植物细胞对胁迫的响应是一个非常复杂的过程。外源 NO 对于缓解 NaCl 胁迫下植物的氧化伤害的机制绝不仅仅限于上述 2 个方面,必然还包括更为复杂的生理生化过程,这些问题需要进一步深入研究。

用 0.05~0.60 mmol/L SNP 溶液浸种处理能促进 0.7% NaCl 胁迫下水飞蓟种子萌发和幼苗生长,提高植物耐盐性。不同栽培类型对 NO 的敏感性不同,以 0.1 mmol/L SNP 溶液处理对 HW 的效果最好,0.4 mmol/L SNP 溶液处理对 SD 的效果最好。

参考文献

- [1] Beligni M V, Lamattina L. Nitric oxide counteracts cytotoxic processes mediated by reactive oxygen species in plant tissues [J]. *Planta*, 1999, 208(3): 337-344.
- [2] 程红焱, 宋松泉. 植物一氧化氮生物学的研究进展 [J]. *植物学通报*, 2005, 22(6): 723-737.
- [3] 黄昌勇. 土壤学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [4] 张永锋, 梁正伟, 隋 丽, 等. 盐碱胁迫对苗期紫花苜蓿生理特性的影响 [J]. *草业学报*, 2009, 18(4): 230-235.
- [5] 凌腾芳, 宣 伟, 樊颖瑞, 等. 外源葡萄糖、果糖和 NO 供体 (SNP) 对盐胁迫下水稻种子萌发的影响 [J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2005, 31(2): 205-212.
- [6] 张艳艳, 刘 俊, 刘友良. 一氧化氮缓解盐胁迫对玉米生长的抑制作用 [J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2004, 30(4): 455-459.
- [7] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [8] 刘 宏. 水飞蓟种子活性成分的提取、分离及初步活性研究 [D]. 北京: 北京化工大学, 2009.
- [9] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [10] 张 华, 孙永刚, 张 帆, 等. 外源一氧化氮供体对渗透胁迫下水稻种子萌发和水解酶活性的影响 [J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2005, 31(3): 241-246.
- [11] 刘建新, 王 鑫, 雷蕊霞. 外源一氧化氮供体 SNP 对黑麦草种子萌发和幼苗生长的影响 [J]. *生态学杂志*, 2007, 26(3): 393-398.
- [12] Delledonne M, Xia Y J, Dixon R A, *et al.* Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance [J]. *Nature*, 1998, 394: 585-588.
- [13] 张春平, 何 平, 杜丹丹, 等. 外源 NO 供体硝普钠 (SNP) 对盐胁迫下紫苏种子萌发及幼苗抗氧化酶活性的影响 [J]. *中药材*, 2011, 24(5): 665-669.
- [14] 刘开力, 凌腾芳, 刘志兵, 等. 外源 NO 供体 SNP 浸种对盐胁迫下水稻幼苗生长的影响 [J]. *植物生理学通讯*, 2004, 40(4): 419-422.
- [15] 吴雪霞, 朱月林, 朱为民, 等. 外源一氧化氮对 NaCl 胁迫下番茄幼苗生理影响 [J]. *中国农业科学*, 2006, 39(3): 575-581.
- [16] 张绪成, 上官周平, 高世铭. NO 对植物生长发育的调控机制 [J]. *西北植物学报*, 2005, 25: 812-818.
- [17] 陈 明, 沈文飏, 阮海华, 等. 一氧化氮对盐胁迫下水稻幼苗根生长和氧化损伤的影响 [J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2004, 30(5): 569-576.
- [18] 阮海华, 沈文飏, 叶茂炳, 等. 一氧化氮对盐胁迫下水稻叶片氧化损伤的保护效应 [J]. *科学通报*, 2001, 46(23): 1993-1997.
- [19] 王玉清. NO 提高黄瓜耐盐性的生理机制研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2005.
- [20] Clark D, Durner J, Navarre D A, *et al.* Nitric oxide inhibition of tobacco catalase and ascorbate peroxidase [J]. *Mol Plant-Microb Interact*, 2000, 13: 1380-1384.
- [21] 刘开力, 韩航如, 徐颖洁, 等. 外源一氧化氮对盐胁迫下水稻根部脂质过氧化的缓解作用 [J]. *中国水稻科学*, 2005, 19(4): 333-337.