

外源海藻糖对 NaCl 胁迫下甘草幼苗生长及总黄酮含量的影响

柳福智, 王 宁

甘肃农业大学农学院, 甘肃 兰州 730070

摘要: **目的** 研究外源海藻糖对 NaCl 胁迫下甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 幼苗的生长及总黄酮含量的影响。 **方法** 研究了 NaCl 胁迫对甘草幼苗生理生长、酶活性、离子含量、渗透调节及总黄酮含量的影响, 采用 Microsoft Excel 2010 对数据进行处理分析与整理, 以 SPSS19.0 统计软件对数据进行方差分析。 **结果** 10~20 mmol/L 海藻糖能够显著降低 NaCl 对甘草幼苗的伤害, 且外源海藻糖浓度为 15 mmol/L 时的作用效果最好。 NaCl 胁迫下施加外源海藻糖浓度为 15 mmol/L 时甘草幼苗的生长最旺盛其生长量增加最明显, 且影响甘草幼苗渗透调节的 K^+ 、 K^+/Na^+ 浓度增加最明显, Na^+ 和 Cl^- 的浓度相对于无 NaCl 胁迫时有所降低; 外源海藻糖浓度为 15 mmol/L 时可使 NaCl 胁迫下甘草幼苗内的抗氧化酶活性提高, 并且可以增加 NaCl 胁迫下植物细胞内光和色素叶绿素的含量, 外源海藻糖浓度为 15 mmol/L 可以降低 NaCl 胁迫下甘草幼苗内可溶性糖、脯氨酸以及细胞调节物质丙二醛 (MDA) 的含量。 **结论** 甘草在 NaCl 胁迫下施加适宜浓度的外源海藻糖能够促进甘草幼苗生长和有效成分的积累, 减少了盐害对甘草生长的危害, 增强 NaCl 胁迫下甘草的生长能力。

关键词: 外源海藻糖; NaCl 胁迫; 甘草; 渗透调节; 离子平衡; 总黄酮

中图分类号: R282.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)24-6345-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.24.025

Effects of exogenous trehalose on growth of *Glycyrrhiza uralensis* seedlings and total flavonoid content under salt stress

LIU Fu-Zhi, WANG Ning

College of Agriculture, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

Abstract: **Objective** To study the effects of exogenous trehalose on the growth and total flavonoids content of licorice (*Glycyrrhiza uralensis*) seedlings under NaCl stress. **Methods** Using licorice seedlings as the material, the effects of NaCl stress on physiological growth, enzyme activity, ion content, osmotic regulation and total flavonoid content of licorice seedlings were studied in this experiment, Microsoft Excel 2010 was used for data processing and analysis, and SPSS19.0 statistical software was used for data analysis of variance. **Results** Trehalose (10—20 mmol/L) significantly reduced the damage of NaCl to licorice seedlings, and the effect was the best when the concentration of exogenous trehalose was 15 mmol/L. Under NaCl stress, when exogenous trehalose concentration was 15 mmol/L, the growth of licorice seedlings was the most exuberant and the growth amount increased the most, and the K^+ and K^+/Na^+ concentrations that affected the osmotic regulation of licorice seedlings increased the most, while the concentrations of Na^+ and Cl^- were decreased compared with those without NaCl stress. When the concentration of exogenous trehalose was 15 mmol/L, the activity of antioxidant enzymes in licorice seedlings under NaCl stress could be improved, and the content of light and chlorophyll in plant cells under NaCl stress could be increased. When the concentration of exogenous trehalose was 15 mmol/L, the contents of soluble sugar, proline and cellular regulatory substance MDA in licorice seedlings under NaCl stress could be reduced. **Conclusion** The application of exogenous trehalose with appropriate concentration under NaCl stress can promote the growth of licorice seedlings and the accumulation of effective components, reduce the harm of salt damage to the growth of licorice, and enhance the growth ability of Licorice under NaCl stress.

Key words: exogenous trehalose; salt stress; *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.; osmotic adjustment; ion balance; total flavonoid

盐害对植物的生长影响巨大, 抑制植物种子的萌发和幼苗的生长、破坏植物体内的正常生理结构, 进一步导致植物的正常生理生长受到影响, 如酶活性降低、渗透调节失去平衡、植物生长缓慢等

收稿日期: 2020-06-03

基金项目: 道地药材安全生产及绿色加工 (2016C-15)

作者简介: 柳福智 (1976—), 男, 副教授, 主要从事药用植物资源开发与利用等方面的教学和科研工作。E-mail: lfz_1976@126.com

影响植物正常生长的代谢过程^[1]。非生物因子 NaCl 是限制作物生长与产量形成的主要因素^[2]。自然界中植物的产量和品质严重受到 NaCl 胁迫的影响。抗盐性是植物的一种常见生理现象,是通过多个基因调控的一个极为繁琐的生理生化过程,并且对植物有多方面的影响尤其是植物生长方面^[3]。我国影响农业生产发展情况的重要因素有盐碱地的面积不断增多和土壤盐渍化程度不断加重^[4],而且 Na⁺在盐碱地的土壤溶液中有较高的浓度。有研究表明,土壤中 Na⁺浓度过高会降低植物细胞内叶绿素含量,从而抑制植物的光合作用,使植物中的有机物质积累降低而影响植物的生长^[5]。

甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 别名甜根、甜草等,豆科多年生草本药用植物;地下部分根及根状茎作为药用部位入药,性平,味甘,具有润肺止咳、解毒的功效,是现实生活中常用的中草药之一。甘草植株中地下部分的生长发达,其发达的地下部分使甘草具有很强的抗干旱、抗寒冬和耐盐碱的能力,并且可以在盐碱浓度低的盐碱地上正常的生长发育^[6]。

海藻糖是一种非还原性的二糖,自然界中的海藻糖对植物生长和有效物质的积累都有一定的影响作用^[7]。Keunen 等^[8]研究表明,自然界中海藻糖的含量很多,而且许多高等植物体内也存在着少许的可溶性海藻糖,另外有学者在微生物体内也发现了海藻糖的踪迹。在逆境条件下,海藻糖可以作为一种植物的渗透调节物质来调节植物细胞膜的相对平衡^[9]。有研究表明,施加适宜浓度的海藻糖可以缓解盐碱等对植物生长的胁迫,并对植物的生理生长有一定的促进。因此,可溶性糖的这一生理作用引起了许多学者的关注。研究表明,可溶性糖是维持植物渗透调节的重要物质并对植物的生理生长有一定的影响作用,可溶性糖对植物体外生物和非生物胁迫可以做出明显的反应,可缓解 NaCl 胁迫对植物的伤害调节植物的正常生长^[10-12]。外源海藻糖也可以降低 NaCl 胁迫下的玉米幼苗内细胞调节物质丙二醛(MDA)的含量,而且参与渗透调节物质脯氨酸(Pro)和可溶性糖的含量也有所降低,最重要的是外源海藻糖减少了高盐对玉米幼苗生长的伤害^[13]。刘岩^[14]报道指出外源海藻糖的使用,有效促进了 NaCl 胁迫下番茄幼苗内脯氨酸含量的增加。

由于外源海藻糖能缓解各种非生物逆境,促进植物更好的生长,对盐胁迫下甘草幼苗生长及

有效成分含量的影响研究鲜见报道,本实验通过研究不同浓度的海藻糖对 200 mmol/L NaCl 胁迫下甘草生长的影响,来研究甘草幼苗的生长及生理指标在 NaCl 胁迫下对不同浓度海藻糖的敏感程度。本研究旨在探讨甘草生产中的盐害问题,研究外源海藻糖对盐害逆境下甘草幼苗生理生长、渗透调节、抗氧化酶及光合作用的影响,主要探讨甘草在 NaCl 胁迫下不同浓度的外源海藻糖对其生长以及有效成分的影响,探索甘草抗盐机制,同时为在盐碱地发展高产优质甘草产业提供理论依据和技术支撑。

1 材料

本实验在甘肃农业大学植物生产类实验室进行,供试甘草种子经过甘肃农业大学陈垣教授鉴定为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的种子。外源海藻糖(北京索莱宝科技有限公司)。

2 方法

2.1 不同海藻糖浓度处理

选取颗粒大小饱满均一的甘草种子。将挑选好的甘草种子用 98%浓硫酸处理 30~40 min,期间不断用玻璃棒进行搅拌,使甘草种子充分与浓硫酸接触,然后用无菌水冲洗种子 3~5 次,洗净种子表面残留的浓硫酸;再用 75%乙醇灭菌 1 min,用无菌水冲洗干净;然后用 0.1%升汞溶液浸泡消毒 8~10 min,用无菌水冲洗 3~5 次,用无菌滤纸吸干种子表面的水分放入超净工作台备用。甘草种子接种:用镊子将处理好的甘草种子接入锥形瓶中,每瓶接入 6~8 粒无菌甘草种子,每个处理 30 瓶,最后将接种好的甘草种子置于组培室的培养架上进行无菌培养。培养温度控制在 28 ℃左右、光照时间 12 h、空气湿度为 55%~60%。3~5 d 长出甘草无菌苗,本实验研究 10、20、30 d 甘草幼苗期的生长情况。本实验共 7 个处理(表 1),每个处理进行 3 次重复,每次取 15~20 株甘草幼苗。

2.2 生理指标测定

分别取不同处理下的甘草幼苗 15~20 株,测定其生长 20 d 的甘草幼苗的生长指标。将甘草幼苗植株上残留的培养基用无菌水冲洗 3~4 次,然后用滤纸吸干植株表面残留的水分,称量地下部位与地上部分的质量,用直尺测定其地上部分和地下部分的长度。

分别测定甘草幼苗生长第 10、20 和 30 天时的生理指标,应取甘草幼苗 15~20 株进行不同时

表 1 实验处理
Table 1 Test treatment

处理	方法
CK1	MS 营养液
CK2	200 mmol/L NaCl+MS 营养液
T1	5 mmol/L 海藻糖+200 mmol/L NaCl+MS 营养液
T2	10 mmol/L 海藻糖+200 mmol/L NaCl+MS 营养液
T3	15 mmol/L 海藻糖+200 mmol/L NaCl+MS 营养液
T4	20 mmol/L 海藻糖+200 mmol/L NaCl+MS 营养液
T5	25 mmol/L 海藻糖+200 mmol/L NaCl+MS 营养液

间段生理指标的测定。用丙酮法提取叶片叶绿素含量^[15]；甘草幼苗的总黄酮含量采用超声和紫外分光光度法测定^[16]。 Na^+ 和 K^+ 含量用火焰分光光度计测定^[17]；用直接电位法测定 Cl^- 的含量^[18]；采用硫代巴比妥酸法测定 MDA 的含量^[15]；用苯酚法测定可溶性糖的含量^[15]；采用张殿忠等^[19]的方法测定脯氨酸的含量；过氧化物酶（POD）的活性、超氧化物歧化酶（SOD）活性和过氧化物酶（CAT）的活性分别采用愈创木酚比色法测定^[15]、采用氮蓝四唑光化还原法测^[20]和用紫外吸收法测定^[15]。

2.3 数据统计与处理

采用 Microsoft Excel 2010 对数据进行处理分析与整理，以 SPSS19.0 统计软件对数据进行方差分析，并对所测甘草幼苗 10、20、30 d 的生长指标和生理指标进行相关性分析。

3 结果与分析

3.1 NaCl 胁迫下不同浓度的外源海藻糖对甘草幼苗生长的影响

如图 1 所示，不同浓度海藻糖处理下生长 20 d 的甘草幼苗植株之间存显著差异。与 CK1 相比，盐处理下的甘草幼苗生长最矮小，但随着外源海藻浓度的逐渐增加甘草幼苗的生长也逐渐的增加，可以看出 T3 处理下的幼苗植株的根系部分和地上部分生长最旺盛，T1、T2、T4、T5 的幼苗长

势相对于 T3 较小，但 T4、T5 的幼苗根系较 T1、T2 的发达。由此可知，盐胁迫下适宜浓度的外源海藻糖可以促进甘草幼苗的生长，且随着海藻糖浓度的增加可以适当增加甘草幼苗根系的生长。

如表 2 所示，CK1 与 CK2 处理株高与鲜质量差异显著，其根长相差了 12%，地上部鲜质量相差了 14%。说明 NaCl 胁迫下能够抑制植物的生长。海藻糖处理后能够看出植株的株高、根长、鲜质量有明显的增加趋势，处理 T1~T5 甘草的根系生长量在不断的增加，T3 时增加最显著，较其他 4 个处理分别增加了 10%、5%、11%、19%，可以看出 T3 相对于 T4 和 T5 增加显著，而 T1 和 T2 增加不显著。不同浓度的海藻糖对甘草幼苗的根冠比也有明显的影响，在 NaCl 胁迫下甘草幼苗的根长与没有 NaCl 处理的相比下降了 30%，差异显著，且海藻糖浓度为 15 mmol/L（T3）时甘草幼苗的增加最明显。这说明适度的海藻糖能够促进 NaCl 胁迫对甘草植物生长。

3.2 NaCl 胁迫下不同浓度的外源海藻糖甘草幼苗中叶绿素含量的影响

如图 2 所示，不同浓度的外源海藻糖对甘草幼苗在盐浓度为 200 mmol/L 下叶绿素的合成都有一定的促进作用，当海藻糖浓度为 15 mmol/L（T3）时甘草幼苗中叶绿素含量增加较明显，相对于 CK2 增加了 41%。而 T3 相对于 T1、T2 都有所增加，分别增加了 38%、16%，差异显著。但 T4、T5 叶绿素含量相对于 T3 变化不明显，但都比 T3 高一些，图中可以看出随着海藻糖浓度的增加叶绿素含量在不断的积累但变化趋于稳定。

3.3 NaCl 胁迫下不同浓度的外源海藻糖对甘草幼苗内离子含量的影响

由图 3-A、3-B 可知，在无 NaCl 胁迫处理（CK1）下甘草幼苗细胞中保持较高量的 K^+ 和较低量的 Na^+ ，当受到 200 mmol/L NaCl 胁迫（CK2）



图 1 NaCl 胁迫下不同浓度海藻糖对甘草幼苗生长的影响

Fig. 1 Effects of trehalose at different concentrations on growth of licorice root seedlings under salt stress

表 2 NaCl 胁迫下不同浓度的海藻糖对甘草植株生长的影响

Table 2 Effects of different concentrations of trehalose on growth of licorice under salt stress

处理	根长/cm	茎长/cm	单株鲜质量/g	
			根系	全株
CK1	9.24±0.27a	7.90±0.23b	0.074±0.006a	0.183±0.013a
CK2	8.10±0.15b	5.87±0.14d	0.052±0.002b	0.154±0.043a
T1	9.10±0.38ab	6.17±0.26d	0.051±0.004b	0.154±0.004a
T2	9.60±0.36ab	7.07±0.12c	0.063±0.006ab	0.170±0.001a
T3	10.20±0.15a	8.10±0.11a	0.073±0.004a	0.183±0.003a
T4	9.16±0.17bc	7.30±0.28bc	0.063±0.005ab	0.161±0.005a
T5	8.26±0.46c	6.17±0.18d	0.047±0.003c	0.151±0.002b

同一列数据后的不同字母表示在 0.05 水平上差异显著, 下同

Values with different letters in the same column are significantly different at $P < 0.05$ based on the LSD test. same as below

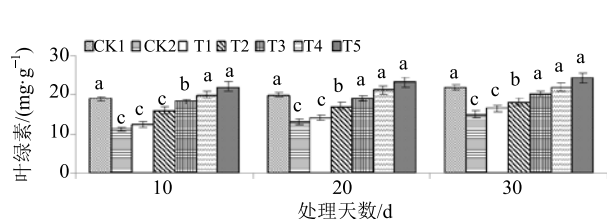


图 2 NaCl 胁迫下不同浓度的外源海藻糖对甘草幼苗内叶绿素含量的影响

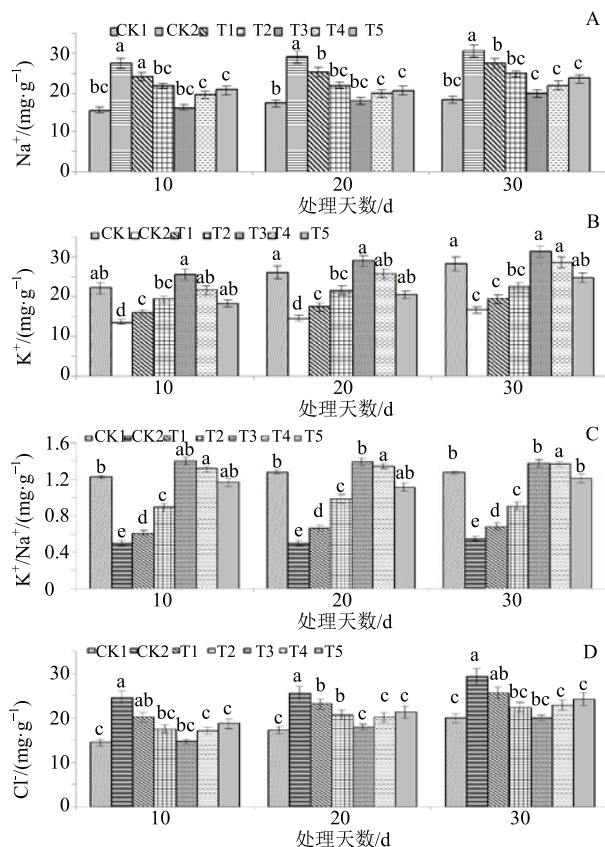
Fig. 2 Effects of different concentrations of exogenous trehalose on chlorophyll content in licorice seedlings under salt stress

时, 这种平衡就会被立刻打破。由图 3-C 可以看出, 处理 CK1 时甘草幼苗中 K^+/Na^+ 虽不是很高, 但当受到 200 mmol/L NaCl 胁迫时 K^+/Na^+ 快速下降, 且下降幅度达 35%。但是在施加不同浓度的海藻糖后 K^+ 、 Na^+ 以及 K^+/Na^+ 的趋势都发生了变化, 在海藻糖浓度为 15 mmol/L (T3) 时可以看出 Na^+ 浓度相对于 CK2 降低了 28%, K^+ 、 K^+/Na^+ 浓度相对于 CK2 分别增加了 40%、43%, 差异显著。适宜浓度的海藻糖可以维持 NaCl 胁迫下 K^+ 和 Na^+ 的相对于平衡。

由图 3-D 可知, Cl^- 在盐浓度为 200 mmol/L (CK2) 时含量最高, 在施加不同浓度外源海藻糖后甘草幼苗中 Cl^- 含量有明显的下降趋势并不断的接近于 CK0, 且 T3 时 Cl^- 含量最接近相差只有 7%, 而 T3 相对于 CK2 降低了 28%, 说明海藻糖可以减少 NaCl 胁迫下 Cl^- 对甘草幼苗的伤害。因此, 本实验可得出外源海藻糖可以维持 NaCl 胁迫下甘草幼苗内的离子的相对平衡。

3.4 NaCl 胁迫下不同浓度的外源海藻糖对甘草幼苗内渗透调节物质可溶性糖和脯氨酸含量的影响

由图 4-A 可以看出, 盐处理 CK2 下可溶性糖含

图 3 NaCl 胁迫下不同浓度的外源海藻糖对甘草幼苗内 Na^+ (A)、 K^+ (B)、 K^+/Na^+ (C)、 Cl^- (D) 的含量的影响Fig. 3 Effects of different concentrations of exogenous trehalose on contents of Na^+ (A), K^+ (B), K^+/Na^+ (C) and Cl^- (D) in glycyrrhiza glycyrrhiza seedlings under salt stress

量相对于其他处理是最高的, 说明高浓度盐可以促进甘草幼苗内可溶性糖的积累, 相比对照 CK1 增加了 34%。由图 4-A 可知, 可溶性糖含量随着海藻糖浓度的不断增加在逐渐降低, 当外源海藻糖的浓度为 15 mmol/L (T3) 时甘草幼苗体内可溶性糖含量降低最明显, 并且接近于 CK1 但数值高于

CK1, 其相对于对照 CK1 增加 7%, 相对于 CK2 降低了 26%, 差异显著。T3 处理下 10、20、30 d 可溶性糖的含量在不断的趋于 CK1, 说明外源海藻糖对 NaCl 胁迫条件下的甘草幼苗积累可溶性糖具有一定的抑制作用, 有利于甘草幼苗的正常生长。由 T4、T5 可以看出随着外源海藻糖浓度的不断增加甘草幼苗内可溶性糖含量也在不断的减少, 其相对于 T3 分别升高 5%、16%, 可以看出甘草幼苗内的可溶性糖又呈上升趋势, 但上升幅度较小, 说明海藻糖浓度为 15 mmol/L 时最有利于 NaCl 胁迫下甘草幼苗内可溶性糖含量的生长。

由图 4-B 可以看出, 200 mmol/L NaCl (CK2) 处理的甘草幼苗内脯氨酸量相对于没有经过盐处理 (CK1) 高, CK2 比 CK1 高了 44%, 差异显著。在施加不同浓度梯度的外源海藻糖后脯氨酸的含量相对于 CK2 有所降低, 由图可以看出, 海藻糖浓度为 15 mmol/L (T3) 时, 甘草幼苗内脯氨酸的量显著降低并接近于 CK1, 与其相差 6%, 而 T3 相对于 CK2 降低了 40%, 差异显著, 且 T3 比 T1、T2、T4、T5 分别降低了 32%、20%、22%、34%。因此可以得出 NaCl 胁迫下海藻糖浓度为 15 mmol/L 时甘草幼苗内脯氨酸最接近于其非盐胁迫时含量, 表明海藻糖可以降低 NaCl 胁迫下甘草幼苗内脯氨酸的含量, 有利于甘草的正常生长。

3.5 NaCl 胁迫下不同浓度的外源海藻糖对甘草幼苗内细胞调节物质 MDA 含量的影响

由图 5 可知, 在 200 mmol/L 的盐浓度下甘草幼

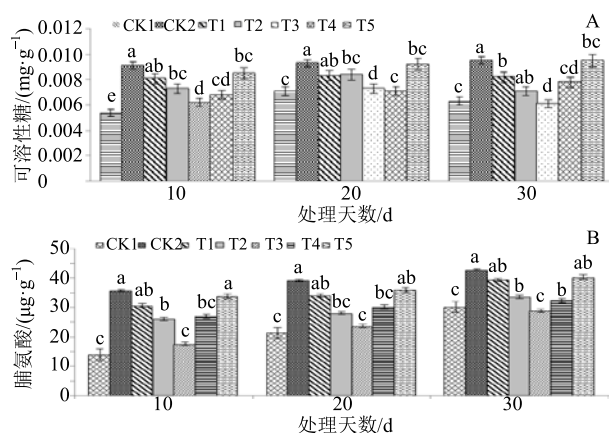


图 4 NaCl 胁迫下不同浓度的外源海藻糖对甘草幼苗内可溶性糖 (A) 和 Pro (B) 含量的影响

Fig. 4 Effects of different concentrations of exogenous trehalose on soluble sugar (A) and proline (B) contents in glycyrrhiza seedlings under salt stress

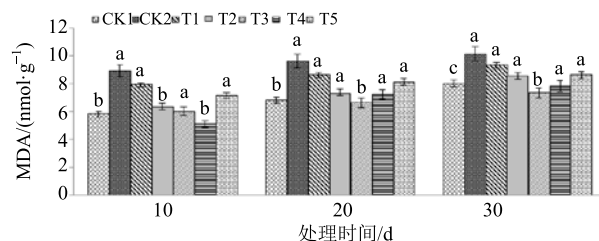


图 5 NaCl 胁迫下不同浓度的外源海藻糖对甘草幼苗内 MDA 含量的影响

Fig. 5 Effects of different concentrations of exogenous trehalose on soluble sugar and proline contents in licoriceseedling under salt stress

苗内 MDA 的含量最高, 与 CK1 相比增加了 24%, 差异明显。由图可以看出, 随着时间的延长甘草幼苗内 MDA 含量在再不断的增加, 但随着外源海藻糖浓度的不断增加 MDA 在甘草体内的含量逐渐降低, 并逐渐接近于 CK1, T3 时与 CK1 最接近, 相差 3%。T3 相对于 CK2 显著降低了 21%, 而其他浓度的海藻糖处理相对 CK2 降低范围在 9%~18%, 因此可以得出海藻糖浓度为 15 mmol/L 是缓解 200 mmol/L NaCl 对甘草幼苗内 MAD 的最适浓度, 说明海藻糖的应用可以减少 NaCl 胁迫下甘草幼苗细胞内 MDA 的生成, 增强甘草抵抗低温能力。

3.6 NaCl 胁迫下不同浓度的外源海藻糖对甘草幼苗中抗氧化酶 CAT、SOD、POD 活性的影响

如图 6-A 所示, 甘草幼苗在 NaCl 浓度为 200 mmol/L (CK2) 时, 幼苗中抗氧化酶 CAT 活性最小, 在海藻糖浓度为 5 mmol/L 和 10 mmol/L (T1、T2) 时 CAT 活性相对于 CK2 下分别增加了 11% 和 20%, 而 T3 相对于 CK2 增加了 28%, T4、T5 比 CK2 分别降低了 24% 和 25%, 由此可以看出, T1、T2、T3 处理增加了甘草幼苗内 CAT 活性, 而 T4、T5 处理相对于 T3 处理较差, 由此可见, 海藻糖浓度为 15 mmol/L T3 时可以有效的增加 NaCl 胁迫下甘草幼苗内抗氧化酶 CAT 的活性。

由图 6-B 可知, NaCl 胁迫下甘草幼苗内 SOD 活性的变化随着外源海藻糖浓度的不断升高呈现逐渐升高后又逐渐降低的变化趋势, 在不同浓度的外源海藻糖处理下 SOD 活性均高于 200 mmol/L NaCl (CK2) 处理, 并且海藻糖浓度为 15 mmol/L (T3) 处理比 CK2 增加了 36%。由图可以看出 T4、T5 时甘草幼苗内 SOD 活性有所下降, 因

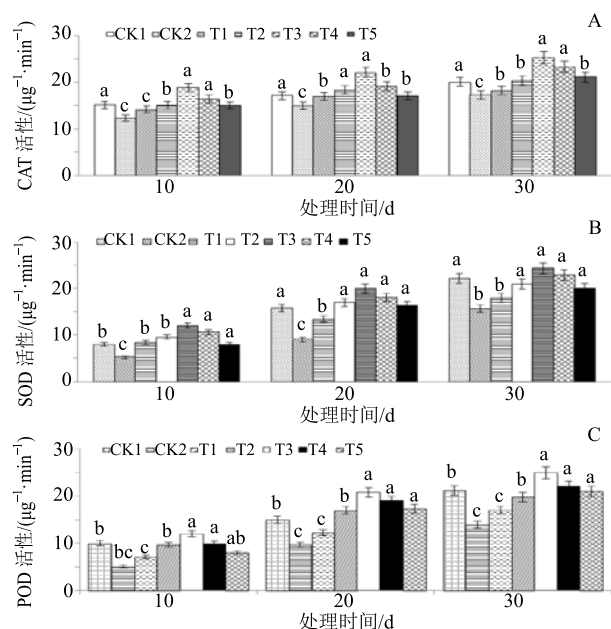


图 6 NaCl 胁迫下不同浓度的外源海藻糖对甘草幼苗内抗氧化酶 CAT (A)、SOD (B)、POD (C) 活性的影响

Fig. 6 Effects of different concentrations of exogenous trehalose on CAT (A), SOD (B) and POD (C) activities of antioxidant enzymes in licorice seedlings under salt stress

此可以看出 T3 时 SOD 的活性是最高的。由此可知, 15 mmol/L 的外源海藻糖能够有效提高 NaCl 胁迫下甘草幼苗根系内 SOD 的活性。

由图 6-C 可知, NaCl 胁迫下甘草幼苗中 POD 活性随海藻糖浓度的变化而变化, 在 NaCl 浓度为 200 mmol/L (CK2) 时 POD 的活性最低。在外源海藻糖浓度为 15 mmol/L 时 POD 的活性最高, 相对于 CK1 增加了 15%, T3 相对于 CK2 增加了 40%, 可以看出 15 mmol/L 的海藻糖可以有效地增加 NaCl 胁迫下甘草幼苗内抗氧化酶 POD 的活性。有图可知, 随着海藻糖浓度升高为 20 mmol/L (T4) 和 25 mmol/L (T5) 时, POD 活性的变化平稳而且其活性略有降低, 说明高浓度的海藻糖可以降低 POD 的活性。

3.7 NaCl 胁迫下不同浓度的外源海藻糖甘草幼苗中总黄酮含量的影响

如图 7 所示, 甘草幼苗内的总黄酮含量在盐浓度为 200 mmol/L (CK1) 时最低, 这说明 NaCl 胁迫可以降低甘草幼苗内的总黄酮的含量。由图可知, 在施加不同浓度的外源海藻糖后甘草体内总黄酮含量不断升高, 当海藻糖浓度为 15 mmol/L (T3) 时总黄酮含量达到最高。随着海藻糖浓度的

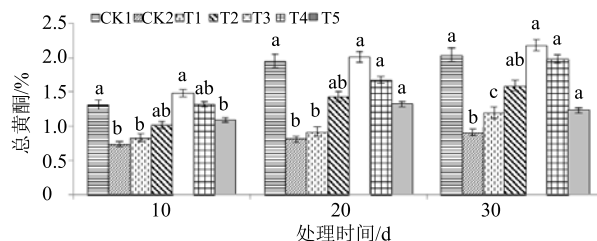


图 7 NaCl 胁迫下不同浓度的外源海藻糖对甘草幼苗内总黄酮含量的影响

Fig. 7 Effects of different concentrations of exogenous trehalose on total brass content in licorice seedling under salt stress

不断升高 (T4、T5), 甘草体内的总黄酮含量呈下降趋势。10、20、30 d 的总黄酮含量在不断地积累, 20 d 和 30 d 相对于 10 d 分别增加了 28% 和 33%。CK2 相对于 CK1 总黄酮含量降低了 53% 差异显著, T3 相对于 CK1 和 CK2 分别增加了 6% 和 56%, 说明 15 mmol/L 的海藻糖不仅能够对减弱 NaCl 胁迫下甘草幼苗内总黄酮有影响, 且有利于总黄酮的积累。

4 讨论

植物的一生中种子萌发和幼苗生长是对盐反应最敏感的 2 个阶段^[21]。王丽燕等^[22]研究表明, NaCl 胁迫对植物的生长影响很多, 其中最明显、最直接的影响指标是植物的生物量。植物的生长受多种非生物因素的影响, NaCl 是抑制植物生长的非生物因素最主要和最普遍的因素之一。有研究表明, 高等植物的地上部的生物量在 NaCl 胁迫下出现明显的下降趋势^[23-24]。NaCl 胁迫下在施加外源海藻糖可以使高等植物地上部生物量有显著的增加趋势^[25]。本实验中, 在 200 mmol/L NaCl 影响下甘草幼苗的生长受到抑制, 地上部分及地下部分的显著降低。但在不同浓度海藻糖作用下, 甘草幼苗生物量和生长量有了明显的增加趋势, 并且当海藻糖浓度为 15 mmol/L 时甘草幼苗的生长量最高, 并与 NaCl 胁迫下的差异显著。因此, 可以得出施加适宜浓度的外源海藻糖能够缓解 NaCl 胁迫对甘草幼苗生长的影响。

植物的光合作用是植物叶片利用光能将二氧化碳和水转化成碳水化合物并且积累能量、释放氧气的重要代谢途径^[26]。叶绿体是植物所有器官中进行光合作用的主要场所, 其不但能够产生光合色素还可以将光能转化为化学能为植物的生长提供能量, 但植物体内的叶绿体对非生物因素盐

的作用较为敏感,在 NaCl 胁迫下叶绿体的正常生长受到影响,进而导致植物生长的能量来源减少^[27]。植物叶片内含有大量的叶绿体,且叶绿体内含有许多重要的进行光合反应的色素分子如叶绿素,有研究表明,叶绿体内叶绿素含量的多少对植物的生理生长有着直接的影响,NaCl 胁迫下植物对水分和无机盐以及矿质营养的吸收能力有所降低,导致植物叶片中叶绿素合成受阻,从而影响色素蛋白复合体的功能,最终减弱植物叶片的光合能力而影响植物的生理生长^[28]。叶绿素酶的活性在盐的作用下有所提高,其促进了叶绿素在植物体内的分解速率,降低了植物体内叶绿素的积累^[29-30],进一步抑制植物的光合作用而影响植物的正常生长。本实验结果表明,施加适宜浓度的外源海藻糖可以缓解 NaCl 胁迫对甘草幼苗内叶绿素的降解速度。因此,海藻糖在某种程度上保护了叶绿体正常生长发育,而促进了植物的生长,这与丁顺华等^[31]研究结果相一致。

K^+ 是调节植物体内的离子平衡、控制渗透压稳定以及调节细胞膨压稳定的重要离子之一^[32]。许多研究者认为, K^+ 在高等植物体内是含量最多的阳离子^[33]。本研究表明,NaCl 胁迫下可以减少甘草幼苗内的 K^+ 含量,在施加不同浓度的外源海藻糖后可以增加甘草幼苗内 K^+ 含量,从而维持甘草幼苗的渗透调节平衡。吴运荣等^[34]研究表, Na^+ 与 Cl^- 在 NaCl 胁迫的情况下在植物体内大量积累,促使出现高盐离子毒害的现象和植物体内渗透调节紊乱,使植物的正常生长发育受到影响。本实验研究表明,NaCl 胁迫下甘草在施加不同浓度的海藻糖后其幼苗内的 Cl^- 和 Na^+ 含量都有所降低,且海藻糖浓度为 15 mmol/L 时作用效果最明显。 K^+ / Na^+ 也是影响植物体内离子平衡的重要因素,其含量的高低也可以反映植物生长的情况。本研究发现外源海藻糖对 NaCl 胁迫下 K^+ / Na^+ 的变化趋势与 Cl^- 和 Na^+ 变化趋势相同,因此,NaCl 胁迫下海藻糖浓度为 15 mmol/L 时甘草幼苗内 K^+ / Na^+ 值是符合植物正常生长所需要的。

植物体内的渗透调节可以反应植物耐盐的基本特征^[35]。植物体内的可溶性物质可以调节细胞膨压的稳定性和控制细胞中酶分子活性构象,还可以减少盐离子对植物体内的酶分子的直接伤害^[36]。植物在盐浓度高的情况下可以积累渗透调节物质来提高细胞的渗透调节能力的大小^[37-38]。

大量研究表明,植物体为了抵抗 NaCl 胁迫的伤害来维持植物体的渗透平衡,其体内会产生较高浓度的可溶性物质脯氨酸和可溶性糖。姜红等^[35]研究表明,植物体内的游脯氨酸是在盐胁迫下植物体内产生的一种主要的渗透调节物质,在胁迫条件下维持细胞内较高的渗透压。从本实验结果可以看出,外源海藻糖可以降低 NaCl 胁迫下甘草幼苗内的脯氨酸含量,且海藻糖浓度为 15 mmol/L 时作用最明显。渗透调节物质中可溶性糖也是非常重要的^[39],但在高盐浓度下可溶性糖积累太多对植物生长有一定的抑制作用。本实验研究表明外源海藻糖可以减少甘草幼苗内的可溶性糖的积累,在 NaCl 胁迫下海藻糖浓度 15 mmol/L 时甘草幼苗内可溶性糖含量与非 NaCl 胁迫下的相近。

植物细胞膜可以根据植物体的需要选择性的通过植物所需的物质,并且细胞膜能够调节细胞内环境的稳定和控制植物细胞正常的生理代谢,促进植物细胞的正常生长^[40]。植物体内 MDA 含量的多少是衡量膜脂受损程度的指标^[41]。大量研究表明,NaCl 胁迫下小麦幼苗叶片中 MDA 含量可以通过加适当量的外源海藻糖来降低^[42]。陈素丽等^[43]研究表明,适宜浓度的外源海藻糖可以抑制 NaCl 胁迫下植物体内的 MDA 含量的增加,促进植物细胞的正常生长。NaCl 胁迫导致甘草幼苗叶片 MDA 含量增加,本实验得出,施加不同浓度的海藻糖后使 NaCl 胁迫下甘草体内的 MDA 含量逐渐下降,当海藻糖浓度为 15 mmol/L 时 MDA 含量接近于 CK1,说明 NaCl 胁迫下施加适宜浓度的外源海藻糖可以降低甘草幼苗的 MDA 的含量,减少 NaCl 胁迫下植物细胞膜的伤害,使甘草在 NaCl 胁迫下可以正常生长。

抗氧化酶系统主要包括 SOD、POD 和 CAT 等,它们是维持植物逆境条件下的正常生长的重要指标^[36]。刘建新等^[44]研究表明,抗氧化酶能够降解植物在逆境条件产生的活性氧,从而减少植物体内活性氧的积累。本实验表明在外源海藻糖的作用下抗氧化酶 SOD、POD、CAT 活性与 NaCl 胁迫下的相比有显著升高的趋势,可以看出海藻糖对甘草幼苗内的活性氧系统有一定的促进作用,有利于甘草幼苗在 NaCl 胁迫下的正常生长。

总黄酮含量的多少是衡量甘草有效物质的重要指标,甘草在高盐浓度胁迫下总黄酮含量下降,当加入不同浓度海藻糖时,黄酮含量的积累

不断增加,海藻糖浓度为 5、10 mmol/L 时甘草黄酮含量逐渐的增加但低于对照 CK1 时的含量,当海藻糖浓度为 15 mmol/L 时甘草黄酮含量的积累达到最高。从本实验可以看出,适宜的海藻糖浓度有利于促进 NaCl 胁迫下甘草幼苗内总黄酮的积累。

综上所述,NaCl 胁迫使甘草幼苗的生物量、叶片内叶绿素含量、抗氧化酶活性以及甘草总黄酮含量都有所降低;外界盐浓度过高会使甘草幼苗内的 MAD、Pro 以及可溶性糖的含量有所增加;另外 NaCl 胁迫还打破了甘草幼苗内 Cl^- 、 K^+ 、 Na^+ 以及 Na^+/K^+ 的相对稳定。但在外源海藻糖的作用下,NaCl 胁迫下的甘草幼苗光合作用、渗透调节、离子平衡、抗氧化系统以及甘草有效成分含量都有所增加与缓解,从而得出适宜浓度的外源海藻糖可提高甘草幼苗的耐盐性。综合本研究结果得出,外源海藻糖可缓解 NaCl 胁迫对甘草幼苗生长的影响,且海藻糖浓度为 15 mmol/L 时是缓解 NaCl 胁迫影响甘草幼苗生长的最佳浓度。

参考文献

- [1] 常青山,张利霞,杨伟,等. 外源 NO 对 NaCl 胁迫下夏枯草幼苗抗氧化能力及光合特性的影响 [J]. 草业学报, 2016, 25(7): 121-130.
- [2] 曹栋栋,陈珊宇,秦叶波,等. 水杨酸调控盐胁迫下羽衣甘蓝种子萌发的机理 [J]. 植物学报, 2020, 55(1): 49-61.
- [3] 张兆英,于秀俊. 植物抗盐性评价生理指标的分析 [J]. 沧州师范专科学校学报, 2006, 22(4): 51-53.
- [4] 王卓然,赵庚星,高明秀,等. 黄河三角洲垦利县夏季土壤水盐空间变异及土壤盐分微域特征 [J]. 生态学报, 2016, 36(4): 1040-1049.
- [5] 束胜,郭世荣,孙锦,等. 盐胁迫下植物光合作用的研究进展 [J]. 中国蔬菜, 2012(18): 53-61.
- [6] 杨发苍,晏瑛. 盐胁迫对甘草种子萌发及幼苗生理指标的影响 [J]. 农业开发与装备, 2019(8): 101.
- [7] 龙正龄,马文广,崔明昆,等. 海藻糖在植物对逆境胁迫响应与适应中的作用 [J]. 安徽农业科学, 2014, 42(16): 4956-4959.
- [8] Keunen E, Peshev D, Vangronsveld J, *et al.* Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: Extending the traditional concept [J]. *Plant Cell Environ*, 2013, 36(7): 1242-1255.
- [9] 刘姣,姜大刚. 作物海藻糖合成相关基因的研究进展 [J]. 基因组学与应用生物学, 2014, 33(2): 432-437.
- [10] El-Bashiti T, Hamamci H, Öktem H A, *et al.* Biochemical analysis of trehalose and its metabolizing enzymes in wheat under abiotic stress conditions [J]. *Plant Sci*, 2005, 169(1): 47-54.
- [11] Baena-González E, Sheen J. Convergent energy and stress signaling [J]. *Trends Plant Sci*, 2008, 13(9): 474-482.
- [12] Eveland A L, Jackson D P. Sugars, signalling, and plant development [J]. *J Exp Bot*, 2012, 63(9): 3367-3377.
- [13] 田礼欣,曲丹阳,毕文双,等. 海藻糖对盐胁迫下玉米幼苗生长及生理特性的影响 [J]. 草业学报, 2017, 26(8): 131-138.
- [14] 刘岩. 外源海藻糖对番茄幼苗生化指标的影响 [J]. 中国园艺文摘, 2016, 32(12): 59.
- [15] 陈刚,李胜. 植物生理学实验 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2016.
- [16] 余茜,马淼,赵红艳. 光果甘草不同愈伤组织中总黄酮含量的比较 [J]. 种子, 2011, 30(7): 4-7.
- [17] Vaishnav A, Jain S, Kasotia A, *et al.* Effect of nitric oxide signaling in bacterial-treated soybean plant under salt stress [J]. *Arch Microbiol*, 2013, 195(8): 571-577.
- [18] 刘爱荣,赵可夫. 盐胁迫下盐芥渗透调节物质的积累及其渗透调节作用 [J]. 植物生理与分子生物学学报, 2005, 31(4): 389-395.
- [19] 张殿忠,汪沛洪,赵会贤. 测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法 [J]. 植物生理学通讯, 1990, 26(4): 62-65.
- [20] Zhou B, Guo Z, Xing J, *et al.* Nitric oxide is involved in abscisic acid-induced antioxidant activities in *Stylosanthes guianensis* [J]. *J Exp Bot*, 2005, 56(422): 3223-3228.
- [21] 罗君,彭飞,王涛,等. 黑果枸杞 (*Lycium ruthenicum*) 种子萌发及幼苗生长对盐胁迫的响应 [J]. 中国沙漠, 2017, 37(2): 261-267.
- [22] 王丽燕,赵可夫. 玉米幼苗对盐胁迫的生理响应 [J]. 作物学报, 2005, 31(2): 264-266.
- [23] Abebe T, Guenzi A C, Martin B, *et al.* Tolerance of mannitol-accumulating wheat to water stress and salinity [J]. *Plant Physiol*, 2003, 131(4): 1728-1755.
- [24] Alqarawi A A, Allah E F A, Hashem A. Alleviation of salt-induced adverse impact via mycorrhizal fungi in *Ephedra aphylla* Forsk [J]. *J Plant Interactions*, 2014, 9(1): 802-810.
- [25] Theerakulp P, Phongngarm S. Alleviation of adverse effects of salt stress on rice seedlings by exogenous trehalose [J]. *Asian J Crop Sci*, 2013, 5(4): 405-415.
- [26] 王静静,张文鹏,徐当会. NaCl 胁迫下钙对沙拐枣 (*Calligonum arborescens*) 株高及光合特性的影响 [J]. 中国沙漠, 2015, 35(1): 167-174.
- [27] 杨瑾,廉华,王彦宏,等. 外源海藻糖对 NaCl 胁迫下番茄幼苗生理指标的影响 [J]. 河南农业科学,

- 2009, 38(12): 97-100.
- [28] Wang R, Chen S, Dengl, *et al.* Leaf photosynthesis, fluorescence response to salinity and the relevance to chloroplast salt compartmentation and anti-oxidative stress in poplars [J]. *Trees Struct Funct*, 2007, 21(5): 581-591.
- [29] 郭启芳, 马千全, 孙 灿, 等. 外源甜菜碱提高小麦幼苗抗盐性的研究 [J]. 西北植物学报, 2004, 24(9): 1680-1686.
- [30] 杨立飞, 朱月林, 胡春梅, 等. NaCl 胁迫下营养液栽培嫁接西瓜生长动态及叶片生理生化特性的研究 [J]. 西南农业学报, 2005, 18(4): 439-443.
- [31] 丁顺华, 李艳艳, 王宝山. 外源海藻糖对小麦幼苗耐盐性的影响 [J]. 西北植物学报, 2005, 25(3): 513-518.
- [32] 乌凤章, 王贺新. 盐胁迫对高丛越橘幼苗生长及离子平衡的影响 [J]. 生态学杂志, 2019, 38(11): 3335-3341.
- [33] 时丽冉, 白丽荣, 崔兴国. NaCl 胁迫对不同耐盐性小黑麦幼苗 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 吸收及分配的影响 [J]. 麦类作物学报, 2014, 34(4): 546-551.
- [34] 吴运荣, 林宏伟, 莫肖蓉. 植物抗盐分子机制及作物遗传改良耐盐性的研究进展 [J]. 植物生理学报, 2014, 50(11): 1621-1629.
- [35] 姜 红, 田丽萍. 作物的耐盐生理生化特性 [J]. 山西农业科学, 2007, 35(4): 42-44.
- [36] 许祥明, 叶和春, 李国凤. 植物抗盐机理的研究进展 [J]. 应用与环境生物学报, 2000, 6(4): 379-387.
- [37] 谭会娟, 李新荣, 赵 昕, 等. 红砂愈伤组织适应盐胁迫的渗透调节机制研究 [J]. 中国沙漠, 2011, 31(5): 1119-1123.
- [38] 鲁 艳, 雷加强, 曾凡江, 等. NaCl 处理对多枝柽柳 (*Tamarix ramosissima*) 生长及生理的影响 [J]. 中国沙漠, 2014, 34(6): 1509-1515.
- [39] 程 霞, 苏 源, 窦玉敏, 等. 盐胁迫下工业大麻苗期生理生化特性的研究 [J]. 昆明学院学报, 2016, 38(6): 81-84.
- [40] Ginnopolitis C N, Rise S K. Superoxide dismutase. I. occurrence in higher plants [J]. *Plant Physiology*, 1997, 59: 309-314.
- [41] Carl N, Ayah D. Snapshot: reactive oxygen intermediates [J]. *Cell*, 2010, 140: 952.
- [42] 杨舒贻, 陈晓阳, 惠文凯, 等. 逆境胁迫下植物抗氧化酶系统响应研究进展 [J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2016, 45(5): 481-489.
- [43] 陈素丽, 彭 瑜, 周 华, 等. 植物海藻糖代谢及海藻糖-6-磷酸信号研究进展 [J]. 植物生理学报, 2014, 50(3): 233-242.
- [44] 刘建新, 王 鑫, 李博萍. 外源一氧化氮供体 SNP 对 NaCl 胁迫下黑麦草幼苗叶片抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响 [J]. 草业学报, 2010, 19(2): 82-88.