

黄腐酸对盐胁迫下红花种子萌发及 幼苗生理特性的影响

张元,冯琼,杨小方,谷春秀,龚平*
(北京联合大学 生物化学工程学院,北京 100023)

摘要:为探讨黄腐酸(FA)缓解红花受盐胁迫伤害的机制,以蒸馏水浸种为空白对照,研究盐(NaCl)胁迫下红花种子的萌发情况以及不同FA浓度对盐胁迫下红花种子萌发及其幼苗生长的影响。结果显示,在NaCl质量浓度 ≥ 60 mg/mL时,红花种子的发芽率显著降低,其中,当NaCl质量浓度为120 mg/mL时,红花种子发芽率为19%;盐胁迫下适宜浓度的FA处理能显著提高红花种子的发芽率,降低幼苗叶片的MDA含量,促进叶绿素合成,增强幼苗SOD、POD、CAT活性,同时能增加细胞膜结构的稳定性。因此,盐胁迫能明显抑制红花种子的萌发及幼苗生长,采用适宜浓度的FA处理能够有效缓解盐胁迫对红花种子萌发及幼苗生长的伤害,促进红花种子萌发,提高红花幼苗的抗盐性。

关键词:红花;黄腐酸;盐胁迫;种子萌发;抗氧化酶活性

中图分类号: S436.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2015)11-0024-04

Effect of Fulvic Acid on Seed Germination and Seedling Physiological Characters of *Carthamus tinctorius* L. under Salt Stress

ZHANG Yuan, FENG Qiong, YANG Xiaofang, GU Chunxiu, GONG Ping*
(College of Biochemical Engineering, Beijing Union University, Beijing 100023, China)

Abstract: The response mechanisms for FA to ease the injury of salt stress on *Carthamus tinctorius* L. were discussed in this paper. Using seeds soaked with distilled water as CK, the experiments tested seed germination under NaCl stress, and the effect of different FA concentrations on seed germination and seedling growth. The results showed that when NaCl concentration was higher than 60 mg/mL, seed germination rate was significantly reduced; when NaCl concentration was higher than 120 mg/mL, seed germination rate was 19%. Under salt stress condition, treatment of appropriate concentration of FA could significantly improve seed germination rate, reduce content of MDA in the seedlings, increase the content of chlorophyll in the seedlings slowly, enhance enzyme activity of SOD, POD and CAT in the seedlings, and improve cell membrane stability. The conclusion is that salt stress significantly inhibit seed germination and seedling growth; appropriate concentrations of FA can effectively alleviate the injury of salt stress on seed germination and seedling growth of *Carthamus tinctorius* L., and enhance seed germination and salt resistance of the seedlings.

Key words: *Carthamus tinctorius* L.; fulvic acid; salt stress; seed germination; antioxidant enzyme activity

收稿日期:2015-05-17
基金项目:北京市教委科技提升计划项目(PXM2014-0142309-07-000080-00133710-FCG)
作者简介:张元(1973-),男,贵州都匀人,讲师,硕士,主要从事中药资源的开发利用研究。
E-mail:zhangyuan333@126.com
* 通讯作者:龚平(1963-),男,湖北云梦人,教授,博士,主要从事生物质发酵及综合利用研究。
E-mail:gongping@buu.edu.cn

盐胁迫是影响种子萌发和幼苗定植生长的重要环境因素之一。近年来,日趋严重的土壤盐渍化已成为影响植物生长和植物生态环境的一个重要因素,也是农业和中药种植生产中的主要障碍之一。研究表明,次生盐渍化土壤中生长的植物植株矮小,发育迟缓,苗期易倒伏,地表有的白根或近地面节生根,根系扎土困难,严重时植株枯萎甚至死亡,从而导致植物产量降低和品质下降^[1]。当前我国各类盐碱地面积大,分布广泛,类型多样,而且每年土壤盐碱化和次生盐碱化仍在不断加重,已经严重威胁农业及中药种植等生产的可持续发展^[2]。加之中药本身广泛的使用和无度开发,使得许多药用植物种质资源不断退化并遭到严重破坏,因此加强药用植物的保护和药用种植资源的可持续利用,了解药用植物的耐盐机制、抗逆性等已成为药植资源可持续利用急需研究的重大课题之一。

红花(*Carthamus tinctorius* L.)为1年或2年生草本植物,是著名的传统药用植物和新兴的重要优良油料作物。红花以花入药,主要含红花苷、红花醌苷及新红花苷等活性成分,具有活血通经、祛瘀止痛的作用,主治痛经闭经、跌打损伤、关节酸痛、冠心病等;果实亦可入药,功效与花相同^[3];红花种子还可作为优良的天然食用油和食用色素的来源,其含油35%~47%,高于大豆,且其所含亚油酸含量在已知油料植物中最高;在医药工业上红花油广泛用作抗氧化剂和维生素A、D的稳定剂;其饼粕含蛋白质高达19%~36%,是优良的饲料来源^[3]。红花在我国大部分地区均有分布和栽培,主产于河南、湖南、四川、新疆、西藏等地^[3]。

黄腐酸(fulvic acid, FA)是一种分子质量较小的有机肥,易溶于水,生理活性大,能影响和调节植物的多种生理活动,包括植物的生长、营养元素的吸收、蛋白质和核酸的合成、光合作用、呼吸作用以及一些酶的活性等^[4-5]。研究表明,FA可减轻盐胁迫对植物种子萌发的影响,提高种子活力,在低温、高温、干旱、盐渍等逆境条件下加速种子发芽,提高出苗率和成苗率,并且还可增强苗期耐逆性^[6-7]。因此,选取在我国分布和栽培广泛的红花作为研究对象,研究黄腐酸对盐胁迫条件下红花种子萌发特性、幼苗定植生长的影响,旨在探索利用FA缓解红花受盐胁迫伤害的机制,为解决红花栽培生产过程中的盐胁迫问题提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料及仪器

红花种子由北京联合大学生物化学工程学院葛

喜珍教授鉴定为菊科植物红花的干燥种子;NaCl(分析纯)为北京化工厂生产;FA由江西萍乡乐乐腐殖酸厂提供,含量为70%,pH值为6.5~7.5。

紫外分光光度计(UV-1100)为上海精密仪器有限公司生产,电子分析天平为梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司生产,智能光照培养箱(GXZ型)为上海迅博仪器厂生产。

1.2 试验设计

1.2.1 盐胁迫、FA对红花种子萌发的影响试验

筛选籽粒饱满、无损伤、大小均匀的红花种子,0.5%高锰酸钾消毒15 min,蒸馏水冲洗5次,然后用吸水纸吸干,将种子播于铺有2层滤纸的培养皿中,每皿50粒。盐胁迫试验设置添加不同质量浓度(10、30、60、90、120、150、250 mg/mL)的NaCl溶液进行培养,添加量为6 mL/皿,通过培养筛选出完全抑制红花种子发芽的盐质量浓度。FA对种子萌发的影响试验设置添加不同质量浓度(10、30、60、90、120、150、200、250 mg/L)的FA溶液浸种,每个剂量为50 mL/皿浸种24 h,倒掉多余的FA溶液,然后用吸水纸吸干,将种子置于铺有2层滤纸的培养皿中进行培养,以筛选出促发芽效果较好的FA质量浓度。试验均以蒸馏水处理作为空白对照(CK),每组处理均设置3个重复。每日每皿添加5 mL蒸馏水,保持滤纸润湿,培养皿置于智能光照培养箱中,温度(23±1)℃、光照时间12 h、光照强度2 000 lx。每天观察记录出苗情况,以胚根长出0.2 cm作为萌发标志,盐胁迫试验第3、5、7、10、15天统计发芽数,FA处理试验第3、4、5、7天统计发芽数,计算发芽率。

1.2.2 FA对盐胁迫下红花种子萌发的影响试验

根据1.2.1的试验结果选择模拟盐胁迫作用的NaCl质量浓度(120 mg/mL),并设置FA质量浓度梯度溶液(30、60、90、150 mg/L)浸种24 h,此外,以FA 0 mg/L处理为阴性对照,空白对照设置及萌发试验方法同1.2.1,每组设置3个重复。每天定时统计萌发数,计算第4天、第7天以及第15天的种子发芽率。

1.2.3 FA对盐胁迫下红花幼苗生长及生理指标的影响试验 将出苗后能继续生长,并且在15 d后仍存活的苗定义为成苗,将成苗移栽于经过高温灭菌的砂石与泥土混合(1:1)的浅土(土层厚度5 cm,每盆0.82 kg)花盆中,每盆移栽5株,浇适量清水以保持土壤润湿,培养3 d后进行盐胁迫处理和FA处理,空白对照设置方法同1.2.1。盐胁迫处理中NaCl质量浓度为120 mg/mL,每盆6 mL,仅处理

1 次^[8];以 FA 0 mg/L 处理为阴性对照,FA 溶液设置 30、60、90、150 mg/L 3 个梯度,剂量为 10 mL/株,每隔 3 d 处理 1 次。10 d 后取幼苗叶片进行生理指标测定。每组处理设置 3 个重复。

株高以植株茎最高部位距土面的高度为准,用直尺测量。叶绿素含量、丙二醛(MDA)含量、脯氨酸含量、膜稳定指数以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性测定均参照文献[9]进行。

1.3 数据处理

采用 SPSS 21 和 Excel 对数据进行统计和分析。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫、FA 对红花种子萌发的影响

由表 1 可以看出,萌发第 3、5 天,NaCl 质量浓度越高,红花种子发芽率降低与发芽延迟的现象越明显;第 7 天的统计结果表明,NaCl 质量浓度增加对红花种子发芽具有明显的抑制作用,其中 10、30 mg/mL 低质量浓度 NaCl 处理组未表现出抑制作用,说明低盐环境对红花种子萌发没有显著影响。从第 15 天的发芽率统计结果看,NaCl 质量浓度 ≥ 60 mg/mL 时,红花种子的发芽率较 CK 显著降低;NaCl 质量浓度为 120 mg/mL 时,红花种子的发芽率为 19%,红花种子发芽受到显著抑制;当 NaCl 质量浓度高达 250 mg/mL 时,红花种子的萌发已完全被抑制;而低浓度盐处理组与 CK 比无显著差异。考虑到盐胁迫对红花种子的萌发既不能完全抑制,又要大部分抑制,因此,后续试验选择 NaCl 质量浓度 120 mg/mL 作为盐胁迫浓度。

表 1 盐胁迫对红花种子发芽率的影响 %					
NaCl 质量浓度/(mg/mL)	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 10 天	第 15 天
0(CK)	49a	71a	79a	85a	91a
10	51a	75a	77a	81a	81a
30	21b	53b	66a	83a	85a
60	16b	32c	43c	67b	71b
90	9c	22c	29d	41c	53c
120	0c	6d	10e	15d	19d
150	0c	2d	4f	6e	11d
250	0c	0d	0f	0e	0e

注:同列不同字母表示差异显著(P<0.05),下同。

由表 2 可知,用不同质量浓度 FA 溶液浸种后,初期红花种子的发芽率均有不同程度的变化。第 3 天,FA 质量浓度 ≤ 90 mg/L 时,红花种子的发芽率与 CK 无显著差异。第 4 天,从种子的发芽率看,FA 中、低剂量处理的发芽率已逐渐接近甚至超过 CK,

说明一定浓度的 FA 处理对红花种子萌发无明显影响,其中以 60、90 mg/L 剂量组发芽率最高,二者在第 7 天的发芽率与 CK 接近。故后续试验选择 FA 质量浓度为 60、90 mg/L,同时设置 1 个低剂量组(30 mg/L)、1 个高剂量组(150 mg/L)。

表 2 FA 对红花种子发芽率的影响 %				
FA 质量浓度/(mg/L)	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 7 天
0(CK)	51a	60a	60a	83a
10	61a	63a	69a	69b
30	53a	57a	61a	65b
60	43a	67a	75b	85a
90	47a	70a	77b	87a
120	25b	51b	63a	73b
150	17b	47b	59a	71b
200	19b	38c	61a	65b
250	20b	55a	60a	73b

2.2 FA 对盐胁迫下红花种子萌发的影响

由表 3 可以看出,红花种子受到盐胁迫后,第 4 天时,阴性对照及 150 mg/L FA 处理的发芽率均较低,同 FA 其他剂量组及空白对照差异显著,说明盐胁迫显著抑制红花种子发芽,高剂量 FA 与盐胁迫共同作用抑制红花种子发芽。第 7 天,FA 各处理组的发芽率均较阴性对照显著提高,其中 30 mg/L FA 处理与 CK 没有显著差异,说明 FA 能不同程度地缓解盐胁迫的伤害。第 15 天时,各质量浓度 FA 处理的发芽率均显著高于阴性对照,说明不同浓度的 FA 均能缓解盐胁迫的伤害,促进红花种子的萌发。

表 3 FA 对盐胁迫下红花种子发芽率的影响 %				
NaCl 质量浓度/(mg/mL)	FA 质量浓度/(mg/L)	第 4 天	第 7 天	第 15 天
0	0	53a	83a	91a
120	0	8c	24d	33d
	30	54a	91a	92a
	60	33b	51c	73b
	90	24b	73b	83a
	150	4c	43c	57c

2.3 FA 对盐胁迫下红花幼苗生长及生理特性的影响

如表 4 所示,空白对照的红花幼苗的株高、叶绿素含量均高于其他各处理,说明盐胁迫条件下红花幼苗的生长及叶绿素合成受到一定程度的抑制。FA 处理后红花幼苗的株高和叶绿素含量均较阴性对照显著提高。可见,FA 可缓解盐胁迫对幼苗生长造成的伤害。

由表 4 可以看出,空白对照的红花幼苗叶片 MDA 含量为 0.11 μmol/g,盐胁迫处理后显著升高

(0.35 $\mu\text{mol/g}$)。经不同质量浓度 FA 处理后,盐胁迫下红花幼苗叶片的 MDA 含量较阴性对照降低,表明外源 FA 处理能够有效降低盐胁迫下红花幼苗叶片 MDA 含量,提高盐胁迫下红花植株的抗性,且 FA 质量浓度为 60 ~ 90 mg/L 时效果最为显著。此外,盐浓度升高,红花幼苗叶片的膜稳定指数下降,而 FA 处理能增加细胞膜结构的稳定性。

表 4 FA 对盐胁迫下红花幼苗生长及生理指标的影响									
NaCl 质量浓度/(mg/mL)	FA 质量浓度/(mg/L)	株高/cm	叶绿素含量/(mg/g)	膜稳定指数/%	MDA 含量/ ($\mu\text{mol/g}$)	脯氨酸含量/ ($\mu\text{g/g}$)	SOD 活性/ (U/mg)	POD 活性/ [U/(mg·min)]	CAT 活性/ [U/(mg·min)]
0	0	8.01 \pm 1.23a	2.20a	1.84b	0.11c	95b	168.31c	146.11a	11.31a
120	0	4.23 \pm 1.15d	0.72d	1.66c	0.35a	26d	90.31e	78.68d	7.48c
	30	5.10 \pm 1.41c	0.81c	1.63c	0.28b	55c	180.27a	128.61b	7.83c
	60	5.77 \pm 1.52c	0.85c	1.87b	0.20b	99b	183.24a	123.52c	8.12b
	90	6.51 \pm 1.36b	0.86c	2.02a	0.21b	132a	177.21b	136.43b	9.83b
	150	5.71 \pm 1.18c	0.97b	2.10a	0.25b	103b	156.39d	130.36b	7.69c

3 结论与讨论

药用植物种子萌发阶段直接影响后期植物的生长发育和产量品质形成,盐浓度对种子萌发和生长有着重要影响^[10]。本研究结果表明,低盐状态下(0 ~ 30 mg/mL)红花种子的萌发率与 CK 没有显著差异;NaCl 质量浓度 \geq 60 mg/mL 时,红花种子萌发受到一定程度的抑制。盐胁迫下通过 FA 进行恢复处理,结果表明,适宜浓度的 FA 能缓解盐胁迫对红花种子萌发生长造成的伤害,其发芽率、株高均有不同程度提高。

植物细胞在盐碱、干旱、低温、紫外线等逆境胁迫下活性氧会大量形成,如果活性氧得不到及时清除将会引发植物膜脂过氧化反应,造成植物损伤,其中 MDA 含量可以反映植物遭受逆境伤害的程度^[11-12]。本试验表明,FA 处理能降低盐胁迫下红花幼苗叶片的 MDA 含量,提高膜稳定指数,提高 SOD、POD、CAT 的活性,加快盐胁迫下活性氧的清除,缓解盐胁迫对红花幼苗的过氧化损伤。

此外,光合作用是植物体内极为重要的代谢过程,叶绿素含量变化影响光合作用的进行,也可反映出植株的受胁迫程度,盐胁迫下植物叶绿素降解,其含量降低,叶绿素的降解主要与活性氧的氧化损伤有关^[10]。本试验结果表明,FA 可以缓解盐胁迫下红花幼苗受到的伤害,促进叶绿素的合成,使叶绿素含量缓慢升高。

总之,适宜浓度的 FA 溶液处理可以促进红花种子的萌发,提高盐胁迫下幼苗植株叶绿素含量、抗氧化酶活性,降低 MDA 含量,有效维持细胞膜的稳定性,从而减轻盐胁迫对植株造成的伤害。但在实际生

与 CK 相比,盐胁迫下红花幼苗叶片 SOD、POD、CAT 活性均显著降低,但经 FA 处理后,SOD、POD 活性均较阴性对照显著提高;60 ~ 90 mg/L FA 处理的 CAT 活性较阴性对照显著提高。说明一定浓度的 FA 处理可以缓解盐胁迫下红花幼苗受到的伤害,提高植株的抗盐性。

产中,其具体的使用浓度和频率还需进一步探索。

参考文献:

[1] 孙建昌,王兴盛,杨生龙.植物耐盐性研究进展[J].干旱地区农业研究,2008,26(1):226-230.

[2] 章文华.植物抗盐机理与盐害防治[J].植物生理学通讯,1997,33(6):479.

[3] 林强,葛喜珍.中药材概论[M].北京:化学工业出版社,2007:164-165.

[4] 陈玉玲.腐植酸对植物生理活动的影响[J].植物学通报,2000,17(1):11-16.

[5] 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.

[6] 杨小环,马金虎,郭数进,等.种子引发对盐胁迫下高粱种子萌发及幼苗生长的影响[J].中国生态农业学报,2011,19(1):103-109.

[7] 徐严,魏小红,李兵兵,等.外源 NO 对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿种子萌发及幼苗氧化损伤的影响[J].草业学报,2013,22(5):145-153.

[8] 李雪娇,吴凤芝.盐胁迫下苯丙烯酸对黄瓜幼苗生长及根际土壤酶活性的影响[J].中国蔬菜,2010(18):15-22.

[9] 张志良,翟伟菁.植物生理实验指导[M].北京:高等教育出版社,2004:1-124.

[10] 蒋明义,杨文英,徐江,等.渗透胁迫下水稻幼苗中叶绿素降解的活性氧损伤作用[J].植物学报,1994,36(4):289-295.

[11] 孙小芳,郑青松,刘友良.NaCl 胁迫对棉花种子萌发和幼苗生长的伤害[J].植物资源与环境学报,2000,9(3):22-25.

[12] 冯利波,蒋卫杰,充秀萍,等.植物耐盐性机理及基因控制技术研究进展[J].农业工程学报,2005,12(S2):5-9.