

CaCl₂ 对盐胁迫下棉花幼苗生长和生理特性的影响

朱 伟^{1,2}, 房卫平^{1*}, 谢德意¹, 杨晓杰¹, 李伶俐², 马宗斌²

(1. 河南省农业科学院 经济作物研究所, 河南 郑州 450002; 2. 河南农业大学 农学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 为利用外源钙提高棉花抗盐性, 以转基因抗虫棉凯丰 16 为材料, 研究了 CaCl₂ 溶液浸种对盐(NaCl)胁迫下棉花种子萌发和幼苗生理特性的影响。结果表明, 一定浓度 CaCl₂ 溶液浸种可提高盐胁迫下棉花种子的发芽率, 增加幼苗苗高和干质量, 随 NaCl 质量浓度增加, CaCl₂ 的缓解效应减弱, 其中以 10 mmol/L CaCl₂ 最佳, 在 4 g/L NaCl 胁迫下, 10 mmol/L CaCl₂ 浸种的发芽率、幼苗苗高、干质量较蒸馏水处理分别增加 16.20%、16.30%、9.60%。在 4 g/L NaCl 胁迫下, CaCl₂ 溶液浸种的棉花幼苗 MDA 含量和相对电导率降低, SOD、POD 活性及脯氨酸含量提高。可见, 一定浓度 CaCl₂ 溶液浸种可提高棉花幼苗的抗盐能力。

关键词: CaCl₂; 盐胁迫; 棉花; 幼苗生长; 生理特性

中图分类号: S562 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2014)06-0035-04

Effects of CaCl₂ on Physiological Characteristics and Growth of Cotton Seedling Under Saline Stress

ZHU Wei^{1,2}, FANG Wei-ping^{1*}, XIE De-yi¹, YANG Xiao-jie¹, LI Ling-li², MA Zong-bin²

(1. Institute of Industrial Crops, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China;

2. College of Agronomy, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: To improve the salt-resistance of cotton with exogenous calcium, the cotton cultivar Kaifeng 16 was selected to explore the CaCl₂ alleviating effect under saline stress(NaCl) on physiological characteristics and growth of cotton seedlings. The results showed that soaking seeds in 10 mmol/L CaCl₂ could improve the seed germination ratio, the height and the dry weight of cotton seedling. Under 4 g/L NaCl stress, the seed germination ratio, the height and the dry weight of cotton seedling in the seed soaking treatment with 10 mmol/L CaCl₂ increased by 16.20%, 16.30% and 9.60% compared to the treatment with distilled water(CK) respectively. The alleviation effects were lower with the higher saline stress. At the same time, the content of MDA and the relative conductivity decreased, the proline content, SOD and POD activities increased as well. This experiment indicates that CaCl₂ may help to improve seed germination and seedling growth, and enhance salt resistance ability of cotton.

Key words: CaCl₂; salt stress; cotton; seedling growth; physiological characteristics

盐碱化严重影响土壤生态环境和农业生产。据统计, 中国盐碱化土壤约占可耕地面积的 25%^[1]。棉花是耐盐性较强的作物之一, 利用盐碱地植棉对于稳定我国棉花生产安全具有十分重要的意义。但土壤盐分浓度过高对棉花生长发育造成严重伤害,

特别是盐胁迫抑制种子的正常萌发, 妨碍盐碱地棉花出苗进而影响产量^[2]。因此, 提高棉花耐盐性成为目前研究的热点^[3-5]。近年来, Ca²⁺ 对植物抗盐性的影响研究备受关注, 许多植物在加入 Ca²⁺ 后一定程度上均表现出盐胁迫减轻^[6-12]。但关于 Ca²⁺ 提高

收稿日期: 2014-01-06

基金项目: 河南省重点科技攻关计划项目(112102110025); 河南省博士后基金项目(2011043); 河南省现代农业产业技术体系棉花创新团队耕作栽培岗位项目(S2014-07-2)

作者简介: 朱 伟(1973-), 男, 河南光山人, 副教授, 博士, 主要从事棉花遗传育种和分子生物学研究。

E-mail: zhuwei_2006z@126.com

* 通讯作者: 房卫平(1963-), 男, 河南虞城人, 研究员, 博士生导师, 主要从事棉花遗传育种研究。E-mail: fangweiping@371.net

棉花抗盐性的生理机制报道较少。鉴于此,研究了 CaCl_2 溶液浸种对盐胁迫下棉花种子萌发及生理特性的影响,旨在为生产上利用钙提高棉花抗盐性提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为转基因抗虫棉凯丰 16,由河南农业大学提供,种子经硫酸脱绒,清水冲洗干净后晾干备用。

1.2 方法

选取籽粒饱满且大小一致的棉花种子,分别用蒸馏水、10 mmol/L CaCl_2 、20 mmol/L CaCl_2 溶液在 25 °C 下浸种 12 h。之后将种子播种在铺有细沙的发芽盒中培养,每盒 50 粒,分别加入以 NaCl(分析纯)配制的质量浓度为 2、4、6、8 g/L 的 NaCl 溶液(以加蒸馏水为对照)。置于 16 h 光照/8 h 黑暗、25 °C 恒温培养箱中培养,培养期间始终保持沙子湿润。每个处理重复 3 次,每重复 1 个发芽盒。处理 5 d 后测定其发芽率(以芽长超过种子长度的 1/2 计为发芽),发芽率为发芽期结束时各组发芽数与总播种种子数之比,即发芽率 = 发芽种子数/总种子数 $\times 100\%$,并于 7 d 后测定其苗高及干质量。

另选取籽粒饱满且大小一致的棉花种子,分别用蒸馏水、10 mmol/L CaCl_2 、20 mmol/L CaCl_2 溶液在 25 °C 下浸种 12 h,置于铺有细沙的发芽盒中培养。设(1)蒸馏水培养(对照);(2)4 g/L NaCl 溶液培养处理。每盒 50 粒,于 16 h 光照/8 h 黑暗、25 °C 恒温条件下培养。每个处理重复 3 次,每重复 1 个发芽盒。处理 10 d 后,测定各处理棉花幼苗根系的相关生理指标。

超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性采用比色法测定,丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定,相对电导率采用电导法测定,游离脯氨酸含量采用酸性水合茚三酮法测定^[13]。

1.3 数据处理

采用 Excel 2003 进行统计分析,采用 LSD 法对数据进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 CaCl_2 浸种对盐胁迫下棉花幼苗生长的影响

2.1.1 种子发芽率 从图 1 可知,随 NaCl 质量浓度的增加,棉花种子的发芽率降低,表明 NaCl 质量浓度越高,对棉花种子发芽率的抑制作用越显著。0 g/L NaCl 下,10 mmol/L CaCl_2 、20 mmol/L CaCl_2 、蒸馏水浸种处理棉花种子的发芽率均大于

90%,处理间差异不显著;高质量浓度盐胁迫下(> 2 g/L NaCl),10 mmol/L CaCl_2 浸种与 20 mmol/L CaCl_2 浸种处理棉花种子的发芽率均高于蒸馏水浸种处理,其中以 10 mmol/L CaCl_2 浸种最佳。4 g/L NaCl 胁迫下,10、20 mmol/L CaCl_2 溶液浸种棉花种子的发芽率分别较蒸馏水浸种处理增加 16.20%、5.80%。说明 CaCl_2 对盐胁迫的缓解作用与 Ca^{2+} 浓度有关,低浓度 CaCl_2 缓解作用较强,高浓度 CaCl_2 缓解作用低。分析其原因,可能是高浓度 CaCl_2 虽然可以提供钙,但也增加了 Cl^- 含量,加重了 NaCl 的胁迫作用。

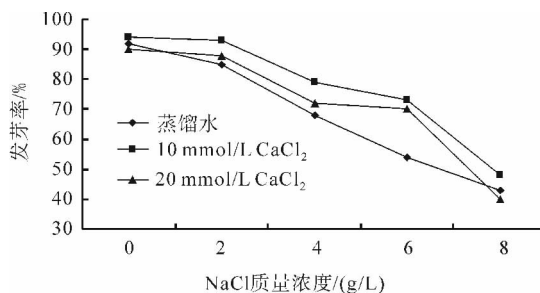


图 1 CaCl_2 浸种对盐胁迫下棉花种子发芽率的影响

2.1.2 幼苗苗高 从图 2 可知,随 NaCl 质量浓度的提高,棉花幼苗苗高逐渐降低。但在相同质量浓度盐胁迫下,10 mmol/L CaCl_2 浸种与 20 mmol/L CaCl_2 浸种处理棉花幼苗苗高均高于蒸馏水浸种处理,其中以 10 mmol/L CaCl_2 浸种最佳。4 g/L NaCl 胁迫下,10、20 mmol/L CaCl_2 溶液浸种棉花幼苗苗高分别较蒸馏水浸种处理增加 16.30%、8.10%。

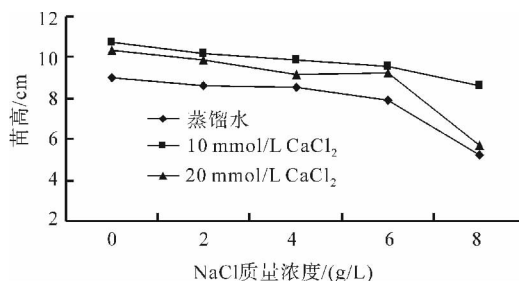


图 2 CaCl_2 浸种对盐胁迫下棉花苗高的影响

2.1.3 幼苗干质量 从图 3 可知,随 NaCl 质量浓度的提高,棉花幼苗干质量降低,表明盐胁迫抑制棉花幼苗干物质的积累。但在相同质量浓度盐胁迫下,10 mmol/L CaCl_2 浸种处理棉花幼苗干质量均高于 20 mmol/L CaCl_2 浸种处理和蒸馏水浸种处理。4 g/L NaCl 胁迫下,10 mmol/L CaCl_2 浸种处理棉花幼苗干质量分别较蒸馏水浸种处理、20 mmol/L CaCl_2 浸种处理增加 9.60%、7.10%。

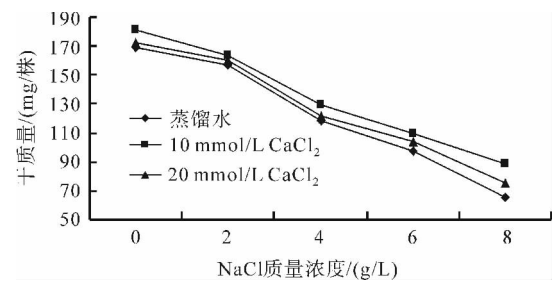


图 3 CaCl₂ 浸种对盐胁迫下棉花幼苗干质量的影响

2.2 CaCl₂ 浸种对盐胁迫下棉花幼苗生理特性的影响

2.2.1 MDA 含量、相对电导率和脯氨酸含量 由表 1 可知,与正常情况(0 g/L NaCl)相比,盐胁迫下棉花幼苗 MDA 含量极显著提高,分析原因,主要是由于棉花种子萌发时 NaCl 进入棉花幼苗内,细胞内盐浓度增加,细胞膜稳定性改变,细胞产生较多的自由基导致 MDA 含量上升。但是 CaCl₂ 处理后,棉花幼苗的 MDA 含量降低,表明 CaCl₂ 能够在一定程度上解除盐胁迫对棉花细胞膜的伤害,降低 MDA 含量,增加细胞膜稳定性,从而提高棉花种子

的发芽率及幼苗耐盐性。

盐胁迫下棉花幼苗体内相对电导率极显著高于正常情况,这主要由于棉花种子萌发时盐分进入棉花幼苗细胞内,增加了细胞膜透性,破坏了细胞膜内外的渗透平衡,使细胞膜受到一定程度的伤害,导致电解质外流,进而引起电导率上升。CaCl₂ 浸种处理棉花幼苗的电导率下降。正常情况(0 g/L NaCl)下,不同浓度 CaCl₂ 浸种处理相对电导率均较蒸馏水浸种显著下降;4 g/L NaCl 胁迫下,10 mmol/L CaCl₂ 浸种处理棉花幼苗电导率较蒸馏水处理降低 20.37%,差异达极显著水平。这表明 CaCl₂ 能够在一定程度上解除盐分对棉花细胞膜的伤害,降低细胞膜通透性,进而提高棉花种子的发芽率及幼苗对盐分的耐受性。

脯氨酸可作为植物抗逆性的一项重要生化指标。与正常情况(0 g/L NaCl)相比,NaCl 胁迫下棉花幼苗脯氨酸含量极显著上升,CaCl₂ 浸种处理棉花幼苗的脯氨酸含量上升,说明 CaCl₂ 能提高棉花细胞膜的渗透势,增强细胞吸水能力,减缓细胞受害程度。

表 1 CaCl₂ 浸种对盐胁迫下棉花幼苗 MDA 含量、相对电导率、脯氨酸含量的影响

NaCl 质量浓度/(g/L)	浸种处理	MDA 含量/(μmol/g)	相对电导率/%	脯氨酸含量/(μg/g)
0(CK)	蒸馏水	19.38cC	4.59dC	212.58fD
	10 mmol/L CaCl ₂	17.51eC	3.81eC	247.23dC
	20 mmol/L CaCl ₂	18.68dC	3.96eC	229.41eD
4	蒸馏水	30.67aA	14.43aA	256.66cB
	10 mmol/L CaCl ₂	23.85bB	11.49cB	273.58aA
	20 mmol/L CaCl ₂	24.83bB	12.51bB	264.99bAB

注:同列不同大、小字母表示 0.01 和 0.05 水平差异显著,下同。

2.2.2 SOD、POD 活性 由表 2 可知,与正常情况(0 g/L NaCl)相比,盐胁迫下棉花幼苗 SOD 活性极显著降低;正常情况和盐胁迫下,CaCl₂ 浸种处理的棉花幼苗 SOD 活性均极显著高于蒸馏水浸种,但 10 mmol/L CaCl₂ 浸种处理棉花幼苗 SOD 活性显著高于 20 mmol/L CaCl₂ 浸种处理。4 g/L NaCl 胁迫下,棉花幼苗 POD 活性较正常情况极显著降低,CaCl₂ 浸种处理棉花幼苗的 POD 活性极显著高于蒸馏水浸种,但 10 mmol/L CaCl₂ 浸种处理与 20 mmol/L CaCl₂ 处理差异不显著。

表 2 CaCl₂ 浸种对盐胁迫下棉花幼苗 SOD、POD 活性的影响

NaCl 质量浓度/(g/L)	浸种处理	SOD 活性/(U/g)	POD 活性/(U/g)
0(CK)	蒸馏水	1 172.16cC	13.78bA
	10 mmol/L CaCl ₂	1 429.45aA	14.62aA
	20 mmol/L CaCl ₂	1 308.23bB	14.49aA
4	蒸馏水	365.22fF	11.37dC
	10 mmol/L CaCl ₂	815.57dD	12.71cB
	20 mmol/L CaCl ₂	743.72eE	12.93cB

3 结论与讨论

本研究结果表明,CaCl₂ 浸种可以在一定程度上提高盐胁迫下棉花种子的发芽率、幼苗苗高以及干质量;CaCl₂ 浸种后,盐胁迫下的棉花幼苗 MDA 含量和相对电导率降低,脯氨酸含量提高,SOD、POD 活性提高。因此,一定浓度 CaCl₂ 溶液浸种可提高棉花幼苗的抗盐能力。

关于 CaCl₂ 对植物盐胁迫的缓解作用,许多学者从不同角度进行了探讨。刘丽云等^[7]的研究结果表明,CaCl₂ 处理能缓解盐胁迫对小麦种子萌发的抑制作用,提高小麦种子发芽率,促进芽和根生长。郑青松等^[11]和孙小芳等^[12]研究认为,外源 Ca²⁺ 明显缓解盐胁迫对棉苗根系及整株幼苗生长发育的抑制,提高根冠比。这与本研究 10 mmol/L CaCl₂ 浸种在一定程度上提高了棉花种子的发芽率、幼苗苗高以及干质量的结果相一致。赵可夫等^[14]的研究

表明, Ca^{2+} 可提高膜的稳定性, 促进营养物质的吸收。盐害首先损伤的是细胞的膜结构, 使细胞膜的通透性增加, 导致细胞内溶质外渗, MDA 是膜脂过氧化作用的主要产物之一, 一般认为其在植物体内积累是活性氧毒害的表现, 其含量是判断膜脂过氧化程度的一个重要指标。施钙能抑制膜脂在盐胁迫下 MDA 的积累, 说明钙能抑制膜脂过氧化作用, 从而减免膜脂过氧化对细胞的伤害。与此同时, 缺钙条件下, 随盐胁迫程度的加重, 质膜透性显著增大, 同时伴随 MDA 含量迅速提高^[15]。其次, 盐害抑制植物体内解毒酶(如 SOD 和 POD)的活性, 使其清除活性氧自由基的能力减弱, 膜脂过氧化程度增强。外源 Ca^{2+} 的施用, 可在一定程度上降低质膜的透性及膜脂过氧化程度, 从而降低对膜的损伤, 因此可在一定程度上恢复 SOD、POD 的活性, 这与本研究结果一致, 采用 CaCl_2 浸种后, 盐胁迫下的棉花幼苗 MDA 含量和相对电导率降低, 脯氨酸含量提高, SOD、POD 活性提高。

总之, CaCl_2 浸种能缓解盐胁迫对棉花种子萌发和幼苗生长发育的抑制, 增强棉花抗盐害的能力。由于本试验是在室内条件下进行的, CaCl_2 在棉花大田盐碱地条件下具体的施用方式和效果如何, 尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] 陈秀兰. 提高棉花抗盐性的途径[J]. 棉花学报, 1998, 10(2): 64-67.
- [2] 叶武威, 王俊娟, 樊宝相, 等. 盐胁迫下不同耐盐性的陆地棉品种脱落规律及机理[J]. 棉花学报, 2007, 19(2): 159-160.
- [3] 李伟强, 杨艳敏, 李存桢, 等. 盐胁迫对转基因抗虫棉及亲本生长发育的影响[J]. 中国生态农业学报, 2007, 15(5): 108-111.
- [4] 蒋玉蓉, 孙玉强, 童旭宏, 等. 种子沙引发对转基因抗虫棉耐盐性的影响[J]. 棉花学报, 2008, 19(3): 212-216.
- [5] 朱伟, 袁超, 马宗斌, 等. 水杨酸对盐胁迫下棉花种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 江西农业学报, 2009, 21(10): 17-19.
- [6] 徐芬芬, 叶利民, 王海勤, 等. CaCl_2 浸种对水稻幼苗抗盐性的影响[J]. 河南农业科学, 2009(12): 44-45, 47.
- [7] 刘丽云, 王明友. CaCl_2 对盐胁迫下小麦种子萌发及生理效应的影响[J]. 河南农业科学, 2010(1): 5-7.
- [8] Bonilla I, El-Hamdaoui A, Bolanos L. Boron and calcium increase *Pisum sativum* seed germination and seedling development under salt stress[J]. Plant Soil, 2004, 267: 97-107.
- [9] Genc Y, Tester M, McDonald G K. Calcium requirement of wheat in saline and non-saline conditions[J]. Plant Soil, 2010, 327: 331-345.
- [10] Adcock K G, Gartrell J W, Brennan R F. Calcium deficiency of wheat grown in acidic sandy soil from Southwestern Australia[J]. J Plant Nutr, 2001, 24(8): 1217-1227.
- [11] 郑青松, 王仁雷, 刘友良. 钙对盐胁迫下棉苗离子吸收分配的影响[J]. 植物生理学报, 2001, 27(4): 325-330.
- [12] 孙小芳, 郑青松, 刘友良. 缩节胺和氯化钙浸种对种子萌发出苗期棉株耐盐性的调节[J]. 江苏农业学报, 2000, 16(4): 204-207.
- [13] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [14] 赵可夫, 卢元芳, 张宝泽, 等. Ca 对小麦幼苗降低盐害效应的研究[J]. 植物学报, 1993, 35(1): 51-56.
- [15] Tuna A L, Kaya. The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stress[J]. Environ Exp Bot, 2007, 59: 173-178.