

NaCl 胁迫下神秘果叶片的生理响应

刘育梅¹, 胡宏友², 宋志瑜³, 许传俊³, 卢昌义²

1 厦门华侨亚热带植物引种园, 福建厦门 361002

2 厦门大学环境与生态学院, 福建厦门 361005

3 福建省亚热带植物研究所, 福建厦门 361006

摘要 为明确神秘果(*Synsepalum dulcificum* Denill)的耐盐能力, 研究其在 NaCl 胁迫下的适应机制并丰富果树的耐盐机理, 通过盆栽试验法, 以 0、2‰、4‰、6‰、8‰ NaCl 溶液分别对幼苗进行胁迫处理, 测定叶片叶绿素、渗透调节物质、抗氧化物酶、丙二醛含量及土壤实际盐度。结果表明: 在 NaCl 胁迫下, 神秘果叶片的叶绿素合成受到明显抑制; 超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)的活性随浓度增加而显著升高, 过氧化氢酶(CAT)活性则是先升后降, 在 4‰时达到最高; 可溶性蛋白含量与处理浓度呈负相关; 脯氨酸、可溶性糖含量和对照相比有显著增加, 推测脯氨酸和可溶性糖在胁迫过程中起着重要的渗透调节作用。

关键词 神秘果; NaCl 胁迫; 生理响应

中图分类号 Q945

文献标识码 A

The Physiological Response of *Synsepalum dulcificum* Denill Leaves to NaCl Stress

LIU Yumei¹, HU Hongyou², SONG Zhiyu³, XU Chuanjun³, LU Changyi²

1 Xiamen Overseas Chinese Subtropical Plant Introduction Garden, Xiamen, Fujian 361002, China

2 College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China

3 Fujian Institute of Subtropical Botany, Xiamen, Fujian 361006, China

Abstract To clear the tolerance and adaptive mechanism of *S. dulcificum* and to rich the theory about the salt tolerance mechanism of fruit trees. The potted plants were watered with 0, 2‰, 4‰, 6‰, 8‰ NaCl and the physiological characteristics including the changes about chlorophyll, soluble protein, soluble proline, soluble sugar, SOD, POD, CAT, MDA of NaCl stress in *S. dulcificum* leaves were measured. The result showed that the chlorophyll synthesis was significantly restricted under NaCl stress. The activity of SOD or POD increased clearly with the NaCl concentration, and the CAT activity increased to a peak under 4‰ NaCl and then dropped. The content of soluble protein dropped under NaCl stress while that of proline, soluble sugar increased significantly. It was deduced that proline or soluble sugar working as osmotic potentials in cells played a key role in salt tolerance of *S. dulcificum*.

Key words *S. dulcificum*; NaCl stress; Physiological response

doi 10.3969/j.issn.1000-2561.2016.04.008

土壤的盐碱化威胁着人类生存的土壤资源, 限制果树的分布和产量^[1]。中国的盐碱地主要分布在辽宁、山东、江苏、浙江、福建、广东等地, 这些地区农业的主要支柱产业之一是果树, 而果树在盐土上的种植潜力取决于其对土壤盐分的耐受能力。果树的耐盐性与盐分的吸收、运输、排泄、抗盐物质的合成积累等密切相关。植物对盐分的生理生态响应及机理机制等引起人们的广泛研究, 研究内容涉及生物学、生理学和生物化学等诸多学科领域。在果树的耐盐性研究方面, 主要从分子水平上开展果树耐盐机制及耐盐新品种选育^[2-3]。耐盐机制可分为简单机制和复杂机制, 其中的复杂机制涉及植

物在胁迫处理下的主要生理变化, 目的是维持光合作用、呼吸作用、水利用效率等重要的植物特征, 盐胁迫破坏植物正常的生理过程主要体现在离子毒害、渗透胁迫、营养失衡及盐胁迫的次级反应例如氧化胁迫等。由于植物耐盐机理复杂^[4-5], 果树的生长周期较长等原因, 目前我国展开研究的果树耐盐性远远不如模式植物深入^[6], 进展较为缓慢, 这对于明确不同果树的耐盐性以及果树对盐胁迫的复杂反应过程等远远不够。

神秘果(*Synsepalum dulcificum* Denill), 隶属山榄科(Sapotaceae)神秘果属(*Synsepalum*), 原产于西非, 为多年生常绿灌木, 现在中国的广西、云

收稿日期 2015-06-24

修回日期 2015-11-23

基金项目 厦门市科技计划项目(No. 3502Z20092023)。

作者简介 刘育梅(1975年—), 女, 博士, 副研究员; 研究方向: 果树逆境生理生态及植物资源开发利用; E-mail: xcong@163.com。

南、福建等地有栽培。果皮呈鲜红色,光滑且薄,果实具有强抗氧化性,果实成分中有神秘果素,能使酸味变甜,故而得名^[7],变味功效在营养保健品上的应用前景日益受到关注^[8],目前关于神秘果果实^[9]、种子^[10]、叶^[11]等的成分测定分析及植株的栽培技术^[12]方面研究较多,但其耐盐性研究尚未见报道。笔者以 NaCl 胁迫处理神秘果,比较分析叶片叶绿素、渗透调节物质及抗氧化酶的变化,通过 NaCl 胁迫对神秘果叶片生理的影响,探讨和丰富果树的耐盐分子机理,并为开发利用神秘果这一热带果树资源提供栽培学上的理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料

供试神秘果来自厦门华侨亚热带植物引种园育苗圃,苗龄2年,盆栽苗规格基本一致,土壤为腐殖土,光照充足、湿度60%~80%。

1.2 方法

1.2.1 植物材料预处理 以2‰、4‰、6‰、8‰浓度的NaCl溶液进行胁迫处理,NaCl浓度为0的自来水为对照。每个处理5次重复,灌溉时以一次浇透为准,待表面土层较干时继续处理,观察并记录植株的盐害现象(无盐害症状为0级;叶尖、叶

缘变黄,受害叶片约占1/5为1级;叶尖、叶缘变黄,受害叶片约占1/2为2级;大部分叶尖、叶缘变黄为3级;叶片焦枯脱落,最终死亡为4级)^[13],叶片出现3级盐害时处理结束。处理时间从2009-12-21开始,至2010-04-10结束,处理结束后取样对象为植株中部成熟叶片。

1.2.2 叶绿素含量测定 采用丙酮-乙醇混合液法^[14]。

1.2.3 CAT、POD活性及丙二醛、可溶性糖的测定 参照张志良等^[15]的方法。

1.2.4 SOD活性测定 参照李合生^[16]的NBT光还原法。

1.2.5 游离脯氨酸、可溶性蛋白测定 参照李合生^[16]的方法。

1.3 数据处理

试验数据采用SPSS 17.0统计软件分析。

2 结果与分析

2.1 土壤实际盐度与盐害现象

2.1.1 土壤的实际盐度 由表1可知,测试的土壤为弱酸性,pH值范围为5.77~6.06,对照的土壤实际盐度为0.03‰,而经过2‰、4‰、6‰、8‰NaCl处理的土壤实际盐度不高,依次为0.84‰、1.33‰、2.22‰、2.71‰。

表1 NaCl胁迫下神秘果株高增值、盐害结果及土壤盐度

Table 1 The height increase, salt damage of *S. dulcificum* and salinity in soil under NaCl stress

项目	处理浓度				
	0‰	2‰	4‰	6‰	8‰
土壤盐度/‰	0.03	0.84	1.33	2.22	2.71
土壤EC/(S/m)	0.28	2.05	3.08	4.97	5.53
土壤pH	5.90	6.06	5.84	5.78	5.77
盐害等级	0	0	0	2	3
株高增值/cm	(2.00±0.10)a	(1.83±0.50)b	(1.05±0.02)c	(1.00±0.01)c	(0.00±0.01)d

说明:同行中不同字母代表差异显著性($p < 0.05$)。下同。

Note: Different alphabets in the end row represented sharp difference ($p < 0.05$). The same as below.

2.1.2 神秘果的盐害现象 神秘果幼苗在前3个盐度(盐度从0.03‰至1.33‰)下未出现盐害,在盐度为2.22‰时出现2级盐害,盐度为2.71‰时出现3级盐害。幼苗株高增值随着处理浓度的增加而减少,且和对照相比有显著差异,可见因NaCl胁迫的影响,植株高度的增长量受到明显抑制。

2.2 NaCl胁迫对神秘果叶的叶绿素含量及抗氧化酶活性的影响

2.2.1 对叶绿素含量的影响 由表2可知,神秘果叶在各处理浓度下的叶绿素含量都显著低于对照,但随着处理浓度升高到一定程度,叶绿素含量

下降趋于平缓;在8‰NaCl处理浓度下,叶绿素含量为1.57 mg/g,与6‰NaCl处理浓度下的叶绿素含量没有显著差异。

2.2.2 对抗氧化酶活性的影响 由表2可知,NaCl胁迫下神秘果的SOD和POD活性的变化趋势一致,均随处理浓度增加而显著升高,8‰NaCl处理浓度下SOD活性为73.48 U/g,POD活性为60.88 U/(g·min)。CAT活性随处理浓度增加而先升高后下降,2‰NaCl处理和对照相比没有显著变化,4‰NaCl处理时达到最高,为3.28 mg/(g·min),8‰NaCl处理CAT活性为2.34 mg/(g·min)。

表2 NaCl胁迫下神秘果叶的叶绿素含量及抗氧化酶活性

Table 2 The chlorophyll contents and antioxidant enzyme activities in *S. dulcificum* leaves under NaCl stress

处理	叶绿素/(mg/g)	SOD/(U/g)	POD/[U/(g·min)]	CAT/[mg/(g·min)]
0	(2.96±0.13)a	(17.62±1.98)a	(35.44±1.08)a	(2.82±0.08)a
2‰	(2.61±0.20)b	(27.09±3.63)b	(45.21±3.13)b	(2.88±0.09)a
4‰	(2.09±0.19)c	(31.70±3.45)c	(51.71±0.94)c	(3.28±0.33)b
6‰	(1.73±0.08)d	(48.10±6.88)d	(55.56±1.10)d	(2.54±0.05)c
8‰	(1.57±0.03)d	(73.48±8.89)e	(60.88±1.29)e	(2.34±0.22)d

2.3 NaCl胁迫对神秘果叶片的有机物及丙二醛的影响

2.3.1 对渗透调节物质的影响 由表3可知,脯氨酸和可溶性糖在神秘果受NaCl胁迫过程中的含量变化基本一致,两者含量随处理浓度的升高而增加,且与对照均有显著差异,在8‰ NaCl处理下,脯氨酸含量达19.25 mg/g,为对照的2.44倍,可溶性糖含量达0.31 mmol/g,为对照的1.72倍;可溶

性蛋白含量随处理浓度升高而下降,且在4‰、6‰、8‰ NaCl处理下均与对照有显著差异,最低值为3.89 mg/g,为对照的45.55%。说明不同有机小分子在植物抗逆过程中所起作用有所差异。

2.3.2 对丙二醛含量的影响 由表3可知,各NaCl胁迫处理下的丙二醛含量与对照相比有显著提高,但各处理浓度之间的丙二醛含量没有显著差异,皆为0.02 μmol/g。

表3 NaCl胁迫下神秘果叶片脯氨酸、可溶性蛋白、可溶性糖及丙二醛的含量

Table 3 The proline, soluble protein, soluble sugar and malonaldehyde contents in *S. dulcificum* leaves under NaCl stress

NaCl浓度/‰	脯氨酸/(mg/g)	可溶性蛋白/(mg/g)	可溶性糖/(mmol/g)	丙二醛/(μmol/g)
0	(7.88±2.03)a	(8.54±0.79)a	(0.18±0.01)a	(0.01±0.00)a
2	(12.77±2.01)b	(7.30±1.11)a	(0.23±0.02)b	(0.02±0.00)b
4	(13.91±3.07)b	(4.88±0.45)b	(0.24±0.02)bc	(0.02±0.00)b
6	(14.09±2.88)b	(4.24±0.46)bc	(0.25±0.01)c	(0.02±0.00)b
8	(19.25±3.10)c	(3.89±0.36)c	(0.31±0.03)d	(0.02±0.00)b

3 讨论与结论

叶绿素含量的高低可以很好地反映植物的光合能力。随着NaCl胁迫程度递增,神秘果叶绿素合成遭受破坏,叶绿素含量递减。本研究结果发现,神秘果的适应性良好,可作为一种新型带果树或园林树种在热带、南亚热带地区进行推广种植,由于2年生幼苗的耐盐性较弱,种植时要注意土壤的盐度极限。

植物体内的抗氧化酶SOD、POD和CAT,可以系统作用和有效清除新陈代谢过程产生的活性氧,使其保持在较低水平,从而防止或降低活性氧引起的膜脂过氧化以及其它的细胞伤害^[17-18],这3种酶的活性变化受植物种类、NaCl浓度及处理时间等综合因素影响:在NaCl胁迫下的3种柳树新品系,耐盐性最好的品系的SOD活性随胁迫强度增加而升高,但POD、CAT及其它2种品系的SOD、POD、CAT活性等则呈先升后降的变化规律^[19];NaCl胁迫下的‘富士’苹果愈伤组织和组培苗,SOD和POD活性升高,但CAT活性降低^[20];‘珠美’海棠叶片的SOD活性在NaCl胁迫下保持相对

稳定^[21];苹果砧木‘M26’的叶片随着胁迫时间加长,SOD活性下降^[22];几种葡萄砧木(‘山河1号’、‘河岸3号’、‘SO4’和‘Dog Ridge’)^[23]和樱桃砧木‘Gisela 5’^[24]叶片的SOD、POD、CAT活性随NaCl处理浓度增加呈现先升高后降低的趋势。本研究结果发现,神秘果叶片的SOD、POD、CAT活性变化与NaCl处理浓度有很好的相关性,但SOD、POD的活性随NaCl浓度增加而显著升高,CAT活性则是先升高后降低。

盐胁迫下,一些有机物质如脯氨酸、甜菜碱、可溶性糖、可溶性蛋白质等,会在果树体内合成和积累,以调节细胞内的渗透势,达到水分平衡,并可保护酶类活性以维持正常的代谢活动^[25];可溶性糖和脯氨酸含量在盐胁迫下的葡萄叶片中显著上升^[26];大麦茎叶中可溶性糖和脯氨酸的含量随NaCl浓度的升高而增加^[27];盐桦体内的脯氨酸、可溶性糖含量随胁迫加重而增多^[28]。非盐生植物的主要渗透调节物质是有机小分子^[4]。神秘果为非盐生植物,随NaCl胁迫浓度增加,脯氨酸、可溶性糖的含量持续上升,且与对照有显著差异,可能脯氨酸、可

溶性糖 2 种有机小分子作为渗透调节物质在神秘果受 NaCl 胁迫过程中起着重要的作用。目前在可溶性蛋白的渗透调节方面研究较少: 扁桃的可溶性蛋白随着盐处理浓度的增加而下降^[29]; 在低质量分数 NaCl 胁迫下, 2 种葡萄品种叶片的可溶性蛋白质含量均缓慢上升, 随着质量分数上升, 不同品种的变化不同, 盐敏感品种急剧下降, 而抗盐品种却保持相对稳定^[26]; 山榄科的人心果、古巴牛乳树及蛋黄果等的叶片可溶性蛋白在 NaCl 胁迫下含量增加^[30], 本研究中的神秘果叶片可溶性蛋白在 NaCl 胁迫下显著降低, 可溶性蛋白对山榄科植物的渗透调节作用还需要进一步研究。

参考文献

- [1] Sharma D K, Dubey A K, Srivastav M, *et al.* Effect of putrescine and paclobutrazol on growth, physiochemical parameters, and nutrient acquisition of salt-sensitive citrus rootstock karma khatta (*Citrus karma* Raf.) under NaCl stress[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2011, 30(3): 301-311.
- [2] Zhou Qiang, Yu Bingjun. Accumulation of inorganic and organic osmolytes and their role in osmotic adjustment in NaCl-stressed vetiver grass seedling[J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2009, 56: 678-685.
- [3] 吴强盛, 刘 琴. 果树对盐胁迫的响应和耐盐机制研究进展[J]. *长江大学学报(农学卷)*, 2007, 4(4): 9-12, 22.
- [4] 林栖凤. 耐盐植物研究[M]. 北京: 科学出版社, 2004.
- [5] 廖 岩, 彭友贵, 陈桂珠. 植物耐盐性机理研究进展[J]. *生态学报*, 2007, 27(5): 2 077-2 089.
- [6] 靳 娟, 鲁晓燕, 王 依. 果树耐盐性研究进展[J]. *园艺学报*, 2014, 41(9): 1 761-1 776.
- [7] 林来官. 福建植物志(第 4 卷)[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1989: 310-311.
- [8] 文亚峰. 神秘果研究现状与进展[J]. *经济林研究*, 2005, 23(4): 84-88.
- [9] 谭才邓, 李 静, 邓毛程. 神秘果果实总 RNA 提取方法比较研究[J]. *基因组学与应用生物学*, 2013, 32(3): 409-412.
- [10] 黄巨波, 刘 红, 卢圣楼, 等. 神秘果种子蛋白质的提取与降糖效用研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2012(24): 1 441-1 443, 1 347.
- [11] Lu S L, Liu H, Chen G Y, *et al.* Chemical composition of leaf Essential oil of *synsepalum dulcificum* and evaluation of its antibacterial and antitumoral activities in vitro[J]. *Chemistry and Industry of Forest Products*, 2014, 34(1): 121-127.
- [12] 宋志瑜, 刘育梅. 福建引进 4 种山榄科果树的经济价值及繁殖技术要点[J]. *福建果树*, 2009(1): 67-69.
- [13] 骆建霞, 史燕山, 吕 松, 等. 3 种木本地被植物耐盐性的研究[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2005, 33(12): 121-124, 128.
- [14] 张治安, 陈展宇. 植物生理实验学技术[M]. 长春: 吉林大学出版社, 2008: 68.
- [15] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导(第 3 版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 268-272.
- [16] 李合生. 现代植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001: 415-420.
- [17] Hernandez J, Jimenez A, Mullineaux P, *et al.* Tolerance of pea plants (*Pisum sativum*) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences[J]. *Plant Cell Environment*, 2000, 23: 853-862.
- [18] He X L, Zhao L, Li Y P. Effects of AM fungi on the growth and protective enzymes of cotton under NaCl stress[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(1): 188-193.
- [19] 刘 铎, 丛日春, 党宏忠, 等. 盐胁迫对柳树新品系的抗氧化酶活性及过氧化物含量的影响[J]. *种子*, 2014, 33(10): 20-23.
- [20] 王 锴, 张立新, 高 梅, 等. 盐胁迫对 2 种苹果属植物愈伤组织及组培苗生长和有机渗透调节物质累积的影响[J]. *西北农业学报*, 2013, 22(2): 112-118.
- [21] 马丽清, 韩振海, 周二峰, 等. 盐胁迫对珠美海棠和山定子膜保护酶系统的影响[J]. *果树学报*, 2006, 23(4): 495-499.
- [22] 卢 艳, 王 飞, 韩明玉, 等. NaCl 胁迫对 4 种砧穗组合苹果的生长及光合特性的影响[J]. *西北农业学报*, 2011, 20(8): 106-110.
- [23] 李会云, 郭修武. 盐胁迫对葡萄砧木叶片保护酶活性和丙二醛含量的影响[J]. *果树学报*, 2008, 25(2): 240-243.
- [24] Erturk U, Sivritepe N, Yerlikaya C, *et al.* Responses of the cherry rootstock to salinity in vitro[J]. *Biologia Plantarum*, 2007, 51: 597-600.
- [25] 李玉全, 张海艳, 沈法富. 作物耐盐性的分子生物学研究进展[J]. *山东科学*, 2002, 15(2): 8-14.
- [26] 樊秀彩, 张亚冰, 刘崇怀, 等. NaCl 胁迫对葡萄幼苗叶片有机渗透调节物质和膜脂过氧化的影响[J]. *果树学报*, 2007, 24(6): 765-769.
- [27] 乔海龙, 陈 和, 陈 健, 等. 盐胁迫对大麦幼苗生理指标的影响[J]. *浙江农业学报*, 2011, 23(2): 1 244-1 247.
- [28] 李 宏, 邓江宇, 张 红, 等. NaCl 胁迫对盐桦幼苗生理特性的影响[J]. *西北植物学报*, 2009, 29(11): 2 281-2 287.
- [29] 买合木提·卡热, 吾甫尔·巴拉提, 候江涛, 等. NaCl 胁迫对扁桃砧木可溶性蛋白质和脯氨酸含量的影响[J]. *新疆农业大学学报*, 2005, 28(1): 1-5.
- [30] 刘育梅, 胡宏友, 童庆宣, 等. NaCl 胁迫对两种铁线子属果树叶片生理特性的影响[J]. *热带作物学报*, 2011, 32(9): 1 679-1 682.

责任编辑: 古小玲