

盐胁迫下紫花苜蓿种子萌发对外源 2,4-表油菜素内酯诱导的生理响应

寇江涛

(宜春学院 生命科学与资源环境学院/江西省作物生长发育调控

重点实验室,江西 宜春 336000)

摘要:外源油菜素内酯(Brassinosteroids, BRs)能够促进盐胁迫下紫花苜蓿(*Medicago sativa*)种子的萌发,本研究以陇中苜蓿和中苜3号紫花苜蓿种子为材料,在150 mmol/L NaCl胁迫下,添加0.1 $\mu\text{mol/L}$ 外源2,4-表油菜素内酯(2,4-epibrassinolide, EBR),研究外源EBR对NaCl胁迫下紫花苜蓿种子萌发及生理的影响,旨在明确外源BRs诱导盐胁迫下紫花苜蓿种子萌发的生理机制。结果表明:(1)150 mmol/L NaCl胁迫下,两个紫花苜蓿品种的种子萌发、幼苗生长明显受到抑制,种子萌发过程中,蛋白水解酶活性显著提高,可溶性蛋白和可溶性糖含量显著降低,超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和过氧化氢酶(CAT)活性显著下降,超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)、羟自由基($\text{OH}^{\cdot}$)、双氧水(H_2O_2)和丙二醛(MDA)积累量显著增加。(2)150 mmol/L NaCl胁迫下,添加0.1 $\mu\text{mol/L}$ 外源EBR对两个紫花苜蓿品种种子的发芽率、发芽势具有明显的促进作用,并显著提高了种子的发芽指数、活力指数及幼苗的苗高、根长、根系活力和幼苗干重。种子萌发过程中,蛋白水解酶活性显著下降,可溶性糖、可溶性蛋白、游离氨基酸含量显著增加,SOD、GPX、APX、CAT活性显著提高, $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\text{OH}^{\cdot}$ 、 H_2O_2 和MDA含量显著降低。说明外源EBR能够有效缓解NaCl胁迫对紫花苜蓿种子萌发和幼苗生长所产生的抑制作用,通过提高渗透调节物质含量和抗氧化酶活性,来维持紫花苜蓿种子萌发过程中的正常的生理生化代谢,降低渗透胁迫和氧化胁迫造成的伤害程度,提高紫花苜蓿种子萌发期的耐盐性。

关键词:紫花苜蓿;NaCl胁迫;2,4-表油菜素内酯;种子萌发

中图分类号:S541 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2020)05-0008-07

DOI: 10.13817/j.cnki.cyyep.2020.05.002

据估计,世界上主要农作物每年高达50%的产量损失由高盐、高温、低温、干旱、重金属污染等非生物胁迫因子造成^[1],其中盐胁迫是抑制作物生长和发育、限制作物产量、降低作物品质的主要非生物胁迫因子^[2]。盐胁迫对植物的伤害分为原初盐害和次生盐害,前者

主要表现为细胞膜组分、透性、离子运输等变化而引起的离子毒害作用和质膜伤害,后者主要表现为植物组织水分外渗、活性氧代谢失调而引起的生理干旱和氧化胁迫^[3-4]。在植物的生长发育过程中,耐盐性因生育时期不同而有所差异,植物种子萌发期对盐胁迫较为敏感^[5]。因此,如何提高植物种子在盐胁迫下的萌发率,并明确其生理机制,已成为逆境植物生理学研究的热点问题^[6]。

紫花苜蓿(*Medicago sativa*)被誉为“牧草之王”,在我国现代化草食畜牧业发展中具有举足轻重的作用,但在我国华北、西北、东北及滨海滩涂等苜蓿主产区,盐渍化土壤面积逐年扩大,严重降低了苜蓿干草的产量和质量,限制了优质、高产苜蓿草产业的发展。紫

收稿日期:2020-01-12; 修回日期:2020-03-06

基金项目:江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ170907);

宜春学院博士科研启动基金(3350100050)资助

作者简介:寇江涛(1986-),男,甘肃镇原人,博士,讲师,研究方向:草种质资源及育种、牧草抗逆生理、牧草栽培及病虫害防治。

E-mail:koujt_ycxy@163.com

花苜蓿种子萌发过程中对盐分的耐受性因浓度、盐分种类而不同,但最终表现为萌发率下降、生长受到抑制^[7-8]。油菜素内酯(Brassinosteroids, BRs)作为一种植物逆境缓和激素,在增强植物抗逆性中发挥着重要的作用^[9]。研究表明,外源 BRs 能够促进盐胁迫下植物种子的萌发和幼苗生长^[10],提高植物幼苗的渗透调节能力^[11],增强植物叶片和根系的抗氧化系统活性^[12-13],提高植物叶片的光合能力^[14],增强植物叶片光系统 II 功能^[15-16],并调控植物的氮代谢^[17]、碳水化合物代谢^[18]和离子稳态平衡^[19],从而增强植物的耐盐性。

已有研究表明,外源 BRs 能够调控盐胁迫下紫花苜蓿种子的萌发^[20],但其机理尚不清楚。以陇中苜蓿、中苜 3 号紫花苜蓿为试验材料,在 150 mmol/L NaCl 胁迫下,通过添加 0.1 μ mol/L 外源 2,4-表油菜素内酯(2,4-epibrassinolide, EBR),以探明外源 BRs 诱导盐胁迫下紫花苜蓿种子萌发的生理机理。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试紫花苜蓿品种中苜 3 号(*M. sativa* cv. Zhongmu No. 3)和陇中苜蓿(*M. sativa* cv. Longzhong),由草业生态系统教育部重点实验室提供;供试 2,4-表油菜素内酯购自 Sigma 公司(美国),Ruibio 分装。

1.2 试验设计

试验设 4 个处理:(1)蒸馏水(CK),(2)150 mmol/L NaCl,(3)0.1 μ mol/L EBR,(4)150 mmol/L NaCl+0.1 μ mol/L EBR,每个处理 3 次重复。试验选取均匀、饱满、大小一致的供试紫花苜蓿种子,用 0.1% HgCl₂ 溶液消毒 5 min,去离子水漂洗 6 次,用吸水纸吸干后置于 9 cm 玻璃培养皿中,每个培养皿 100 粒种子,添加对应的处理液后置于种子发芽箱中进行发芽,每天光照 14 h,温度 25 $^{\circ}$ C/20 $^{\circ}$ C(昼/夜),相对湿度为(75 $\pm$ 5)%,为保证试验期间各个处理液浓度的稳定,每隔 24 h 更换一次处理液。

1.3 测定方法

试验期间,自种子萌发之日起,每日观察并记录发芽种子数,以胚根突破种皮作为发芽标准。发芽第 10 d 时,计算各个处理苜蓿种子的发芽势(以 4 d 内正常发芽种子数计算)、发芽率(以 10 d 内正常发芽种子数

计算)、发芽指数和活力指数,并测定幼苗的苗高、根长、根系活力和幼苗干重。其中,根系活力采用 TTC 法测定^[21]。

NaCl 处理第 4 d 时,取样测定苜蓿种子萌发过程中的渗透调节能力。其中,可溶性蛋白、可溶性糖和游离脯氨酸含量参照邹琦^[21]的方法测定,蛋白水解酶活性参照寇江涛^[10]的方法测定。

NaCl 处理第 10 d 时,取样测定紫花苜蓿幼苗体内抗氧化酶活性、活性氧水平和 MDA 含量。其中,SOD、APX、GPX 和 CAT 活性参照寇江涛等^[12]方法测定,O₂^{·-}(超氧阴离子自由基)、OH[·](羟自由基)、H₂O₂ 和 MDA 含量参照寇江涛等^[22]方法测定。

1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 2003 进行统计,采用 SPSS 16.0 作显著性差异检验,发芽势、发芽率数据作显著性分析之前进行反正弦转换, $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿种子萌发和幼苗生长的影响

结果表明,和 CK 相比较,150 mmol/L NaCl 胁迫下,紫花苜蓿种子萌发和幼苗生长受到显著抑制,两个苜蓿品种种子的发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数均显著降低($P<0.05$),两个苜蓿品种幼苗的苗高、根长、根系活力和干重均显著降低($P<0.05$)(表 1)。和 CK 相比较,0.1 μ mol/L EBR 处理对两个苜蓿品种种子萌发和幼苗生长无显著影响($P>0.05$)。150 mmol/L NaCl 胁迫下,添加 0.1 μ mol/L EBR 能够明显缓解 NaCl 胁迫对紫花苜蓿种子萌发和幼苗生长的抑制作用,显著提高两个苜蓿品种种子的发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数和幼苗的苗高、根长、根系活力、干重($P<0.05$)。

2.2 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿种子萌发过程中渗透调节能力的影响

和 CK 相比较,150 mmol/L NaCl 胁迫显著降低了两个苜蓿品种种子萌发过程中的可溶性蛋白和可溶性糖含量($P<0.05$),显著提高了蛋白水解酶活性($P<0.05$),游离脯氨酸含量无显著变化($P>0.05$)。和 CK 相比较,0.1 μ mol/L EBR 处理对两个苜蓿品种种子萌发过程中的可溶性蛋白、可溶性糖含量和蛋白水解酶活性无显著影响($P>0.05$),但显著提高了脯氨

酸含量($P<0.05$)。150 mmol/L NaCl 胁迫下,添加 0.1 $\mu\text{mol/L}$ EBR 能够显著降低两个苜蓿品种种子萌发过程中蛋白水解酶活性($P<0.05$),有效抑制可溶性蛋白的水解,显著提高可溶性蛋白、可溶性糖和游离脯氨酸含量($P<0.05$),从而增强 NaCl 胁迫下紫花苜蓿种子萌发过程中的渗透调节能力(表 2)。

表 1 NaCl 胁迫下添加外源 EBR 对紫花苜蓿种子萌发和幼苗生长的影响

Table 1 Effects of exogenous EBR on seed germination and seedling growth of alfalfa under NaCl stress

指标	品种	处理			
		CK	NaCl	EBR	NaCl+EBR
发芽势/%	中苜 3 号	91.00±2.00 ^a	61.33±2.08 ^c	91.67±2.52 ^a	77.33±2.52 ^b
	陇中苜蓿	89.00±2.00 ^a	48.67±2.52 ^c	89.67±2.08 ^a	62.67±2.08 ^b
发芽率/%	中苜 3 号	97.33±1.53 ^a	68.33±2.52 ^c	97.67±1.53 ^a	82.33±2.08 ^b
	陇中苜蓿	95.67±2.08 ^a	56.00±2.65 ^c	96.33±2.52 ^a	73.67±1.53 ^b
发芽指数	中苜 3 号	173.26±5.64 ^a	105.46±5.13 ^c	176.83±11.13 ^a	140.74±11.20 ^b
	陇中苜蓿	166.64±5.81 ^a	81.41±5.86 ^c	168.87±9.83 ^a	123.55±9.73 ^b
活力指数	中苜 3 号	47.57±2.15 ^a	20.56±1.89 ^c	48.65±2.24 ^a	35.38±2.27 ^b
	陇中苜蓿	44.91±1.69 ^a	13.59±1.67 ^c	44.56±2.19 ^a	30.24±1.91 ^b
苗高/cm	中苜 3 号	2.83±0.29 ^a	1.69±0.29 ^c	2.84±0.33 ^a	2.35±0.29 ^b
	陇中苜蓿	2.52±0.28 ^a	1.31±0.26 ^c	2.54±0.26 ^a	1.92±0.29 ^b
根长/cm	中苜 3 号	3.73±0.32 ^a	1.75±0.35 ^c	3.68±0.33 ^a	2.49±0.39 ^b
	陇中苜蓿	3.59±0.33 ^a	1.31±0.34 ^c	3.65±0.37 ^a	2.17±0.45 ^b
根系活力/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	中苜 3 号	234.03±8.20 ^a	104.02±7.31 ^c	235.35±11.51 ^a	173.68±8.03 ^b
	陇中苜蓿	217.80±8.79 ^a	95.75±10.23 ^c	227.67±10.42 ^a	153.50±7.34 ^b
干重/($\text{mg}\cdot\text{株}^{-1}$)	中苜 3 号	2.79±0.14 ^a	1.85±0.12 ^c	2.83±0.11 ^a	2.36±0.19 ^b
	陇中苜蓿	2.64±0.13 ^a	1.58±0.17 ^c	2.69±0.19 ^a	1.99±0.13 ^b

注:CK:对照(蒸馏水);NaCl:150 mmol/L NaCl;EBR:0.1 $\mu\text{mol/L}$ EBR;NaCl+EBR:150 mmol/L NaCl+0.1 $\mu\text{mol/L}$ EBR。同行数值后不同字母表示差异显著($P<0.05$),下同

表 2 NaCl 胁迫下添加外源 EBR 对紫花苜蓿种子萌发过程中渗透调节能力的影响

Table 2 Effects of exogenous EBR on osmotic regulation of alfalfa seeds during germination under NaCl stress

指标	品种	处理			
		CK	NaCl	EBR	NaCl+EBR
可溶性蛋白/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)	中苜 3 号	4.66±0.25 ^b	3.30±0.29 ^c	4.82±0.22 ^b	5.53±0.16 ^a
	陇中苜蓿	5.45±0.34 ^b	4.07±0.33 ^c	5.90±0.47 ^b	6.93±0.58 ^a
可溶性糖/($\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)	中苜 3 号	18.97±2.02 ^{ab}	10.74±2.29 ^c	20.34±1.60 ^a	15.88±1.74 ^b
	陇中苜蓿	22.21±1.97 ^a	12.72±2.06 ^c	24.22±1.62 ^a	18.27±1.78 ^b
游离脯氨酸/($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)	中苜 3 号	10.98±0.67 ^c	9.90±1.06 ^c	15.66±0.82 ^a	13.46±0.70 ^b
	陇中苜蓿	13.29±0.77 ^c	12.32±0.66 ^c	18.70±0.72 ^a	15.44±1.05 ^b
蛋白水解酶活性/($\delta 278\cdot\text{min}^{-1}\text{FW}$)	中苜 3 号	0.96±0.12 ^b	1.53±0.11 ^a	0.97±0.17 ^b	0.65±0.14 ^c
	陇中苜蓿	1.16±0.15 ^b	1.58±0.20 ^a	1.20±0.17 ^b	0.82±0.17 ^c

2.3 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿幼苗抗氧化酶活性和活性氧水平的影响

和 CK 相比较,150 mmol/L NaCl 胁迫显著降低了紫花苜蓿幼苗体内的抗氧化酶活性,使得活性氧大量积累,膜脂过氧化程度加剧,两个苜蓿品种幼苗体内

的抗氧化酶(SOD、APX、GPX、CAT)活性显著下降($P<0.05$),活性氧($\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\text{OH}^{\cdot}$ 、 H_2O_2)和 MDA 含量显著增加($P<0.05$)。和 CK 相比较,0.1 $\mu\text{mol/L}$ EBR 处理对两个苜蓿品种幼苗体内的抗氧化酶活性和活性氧水平无显著影响($P>0.05$)。150 mmol/L NaCl 胁

迫下,添加 0.1 $\mu\text{mol/L}$ EBR 能够显著提高紫花苜蓿幼苗的抗氧化能力,有效抑制活性氧积累,降低膜脂过氧化程度,两个苜蓿品种幼苗体内的 SOD、APX、GPX

和 CAT 活性显著提高($P<0.05$), $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\text{OH}^{\cdot}$ 、 H_2O_2 和 MDA 含量显著降低($P<0.05$)(表 3)。

表 3 NaCl 胁迫下添加外源 EBR 对紫花苜蓿幼苗抗氧化酶活性和活性氧水平的影响

Table 3 Effects of exogenous EBR on antioxidant enzyme activity and active oxygen level of alfalfa seedlings under NaCl stress					
指标	品种	处理			
		CK	NaCl	EBR	NaCl+EBR
SOD 活性 /($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)	中苜 3 号	123.71 $\pm$ 11.72 ^b	86.66 $\pm$ 10.41 ^c	124.68 $\pm$ 15.01 ^b	176.55 $\pm$ 9.78 ^a
	陇中苜蓿	131.15 $\pm$ 11.23 ^b	88.01 $\pm$ 9.96 ^c	128.22 $\pm$ 10.97 ^b	178.48 $\pm$ 10.30 ^a
APX 活性/($\text{mmol H}_2\text{O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein}$)	中苜 3 号	2.98 $\pm$ 0.23 ^b	2.25 $\pm$ 0.30 ^c	3.01 $\pm$ 0.24 ^b	3.68 $\pm$ 0.29 ^a
	陇中苜蓿	3.12 $\pm$ 0.21 ^b	2.68 $\pm$ 0.20 ^c	3.24 $\pm$ 0.26 ^b	3.96 $\pm$ 0.32 ^a
GPX 活性/($\text{mmol H}_2\text{O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein}$)	中苜 3 号	4.12 $\pm$ 0.23 ^b	3.03 $\pm$ 0.20 ^c	4.02 $\pm$ 0.34 ^b	5.09 $\pm$ 0.29 ^a
	陇中苜蓿	3.57 $\pm$ 0.38 ^b	2.84 $\pm$ 0.20 ^c	3.71 $\pm$ 0.26 ^b	4.49 $\pm$ 0.33 ^a
CAT 活性/($\text{mmol H}_2\text{O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein}$)	中苜 3 号	157.21 $\pm$ 13.76 ^b	118.33 $\pm$ 14.46 ^c	157.39 $\pm$ 14.44 ^b	225.78 $\pm$ 12.98 ^a
	陇中苜蓿	171.67 $\pm$ 10.93 ^b	124.22 $\pm$ 11.67 ^c	185.00 $\pm$ 12.94 ^b	246.06 $\pm$ 11.55 ^a
$\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率 /($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)	中苜 3 号	3.66 $\pm$ 0.18 ^c	4.91 $\pm$ 0.47 ^a	3.70 $\pm$ 0.29 ^c	4.19 $\pm$ 0.25 ^b
	陇中苜蓿	6.22 $\pm$ 0.31 ^c	9.14 $\pm$ 0.54 ^a	6.18 $\pm$ 0.36 ^c	7.22 $\pm$ 0.42 ^b
$\text{OH}^{\cdot}$ 含量 /($\text{A} \cdot 1000 \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)	中苜 3 号	872.33 $\pm$ 42.89 ^c	1 240.17 $\pm$ 47.75 ^a	815.75 $\pm$ 52.29 ^c	1 035.67 $\pm$ 68.54 ^b
	陇中苜蓿	1 134.47 $\pm$ 58.66 ^c	1 485.75 $\pm$ 77.93 ^a	1 167.80 $\pm$ 57.57 ^c	1 322.42 $\pm$ 52.62 ^b
H_2O_2 含量 /($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)	中苜 3 号	3.54 $\pm$ 0.29 ^c	6.13 $\pm$ 0.70 ^a	3.61 $\pm$ 0.32 ^c	4.67 $\pm$ 0.30 ^b
	陇中苜蓿	4.20 $\pm$ 0.20 ^c	7.87 $\pm$ 0.75 ^a	4.34 $\pm$ 0.43 ^c	5.64 $\pm$ 0.34 ^b
MDA 含量 /($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)	中苜 3 号	6.36 $\pm$ 0.52 ^c	12.04 $\pm$ 0.77 ^a	6.08 $\pm$ 0.76 ^c	7.97 $\pm$ 0.63 ^b
	陇中苜蓿	6.80 $\pm$ 0.32 ^c	13.98 $\pm$ 0.94 ^a	6.64 $\pm$ 0.49 ^c	8.56 $\pm$ 0.64 ^b

3 讨论

植物种子的萌发是一个复杂的生理生化过程,同时受多基因调控和环境因子的影响,而植物激素在诱导植物种子萌发过程中发挥着重要的作用。严晓红等^[23]研究表明,油菜素内酯能够通过调控棉花种子萌发期子叶和胚根 GhNAC 的表达来响应干旱胁迫。BRs 是植物种子萌发的非必要条件,但 BRs 能够通过不同的信号和生化机理来共同调控植物种子的萌发^[24]。李凯荣等^[25]用天然油菜素内酯对 5 种牧草种子进行浸种处理可提高种子的发芽率和发芽势,缩短发芽天数,最明显的促进效应表现为胚根下胚轴伸长。程彦伟等^[26]用天然油菜素内酯对黄豆和绿豆种子进行浸种处理,发现黄豆和绿豆的发芽率显著提高,并促进了芽苗的生长。闫小红等^[27]研究表明,0.05 mg/L EBR 对低温(15℃)胁迫下辣椒种子的萌发率具有显著的促进作用。闫慧萍等^[28]研究表明,0.05 mg/L

EBR 能够缓解 180 mmol/L NaCl 对玉米种子的胁迫伤害,促进玉米种子萌发,并降低盐害指数,增加玉米幼苗的株高、根长和单株干鲜重,同时 0.1 mg/L EBR 能够缓解低温(15℃)对玉米种子的胁迫伤害,对玉米种子的发芽率和玉米幼苗的株高、根长、单株干鲜重均具有促进作用。袁红梅等^[29]研究表明,0.5 mg/L 油菜素内酯浸种能够显著提高 150 mmol/L NaCl 胁迫下亚麻种子的发芽势和发芽率。以上研究结果与本研究结果一致,本试验在 150 mmol/L NaCl 胁迫下,添加 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 外源 EBR 对中苜 3 号和陇中苜蓿种子的发芽率和发芽势均具有促进作用,对苜蓿幼苗的苗高、根长及幼苗干重也具有显著的促进作用,同时还提高了苜蓿幼苗的根系活力,这与陆晓民等^[30]在外源 EBR 缓解黄瓜幼苗低氧胁迫上的结果一致。

渗透调节是植物在生长发育过程中缓解逆境产生的渗透胁迫的最基本策略^[31]。闫慧萍等^[28]研究表明,外源 EBR 能够显著提高 180 mmol/L NaCl 胁迫和低

温(15℃)胁迫下玉米种子萌发过程中的脯氨酸和可溶性糖含量。吴雪霞等^[32]研究表明,0.05 mg/L 外源 EBR 能够显著提高 150 mmol/L NaCl 胁迫下茄子幼苗中的脯氨酸和可溶性糖含量。孙珊珊等^[33]研究表明,0.005 mg/L 外源 EBR 能够显著提高 250 mmol/L NaCl 胁迫下多年生黑麦草幼苗的脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量。上述研究结果与笔者研究结果一致,本试验在 150 mmol/L NaCl 胁迫下,紫花苜蓿种子萌发过程中的可溶性糖含量显著降低,这对维持 NaCl 胁迫下细胞的渗透平衡具有不利影响,但蛋白水解酶活性显著提高,能够加速可溶性蛋白的水解,可溶性蛋白含量显著降低,但可溶性蛋白水解产生大量的游离氨基酸有利于维持 NaCl 胁迫下细胞的渗透平衡。添加 0.1 μmol/L EBR 后,游离脯氨酸含量显著增加,能够降低 NaCl 胁迫下细胞的渗透势,并减轻蛋白质分子受 NaCl 胁迫所产生的氧化胁迫伤害程度,同时可溶性糖含量显著增加,也有利于维持 NaCl 胁迫下细胞的渗透平衡,还能保持种子萌发过程中多种酶的活性,此外蛋白水解酶活性显著下降,使得可溶性蛋白含量维持在一定水平,从而提高紫花苜蓿种子萌发期的抗盐性。

逆境胁迫下,植物体内产生氧化胁迫,并诱导产生 ROS 信号,进而引发植物的防御性反应,而抗氧化酶被激活则是植物抵御氧化胁迫最直接、最有效的途径^[34]。吴雪霞等^[32]研究表明,150 mmol/L NaCl 胁迫下,0.05 mg/L 外源 EBR 能够显著提高茄子幼苗的 SOD、POD、CAT 和 APX 活性,降低 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率和 MDA 含量,缓解盐胁迫对茄子幼苗的氧化损伤,提高其耐盐能力。孙珊珊等^[33]研究表明,250 mmol/L NaCl 胁迫下,0.005 mg/L 外源 EBR 能够显著提高多年生黑麦草幼苗 APX、SOD、POD 和 CAT 活性,明显减少 H_2O_2 的积累,降低 MDA 含量,有效缓解盐胁迫对黑麦草幼苗的伤害。普布卓玛等^[35]研究表明,1 μmol/L EBR 能够提高低温(4℃)胁迫下西藏野生垂穗披碱草幼苗的 APX、GR 和 SOD 活性,降低 MDA 和 $O_2^{\cdot-}$ 的积累,减轻低温胁迫引起的膜脂过氧化程度,增强西藏野生垂穗披碱草幼苗的耐寒性。闫慧萍等^[28]研究表明,180 mmol/L NaCl 胁迫下,外源 EBR 能够显著增加玉米幼苗的 SOD、POD、CAT 和 APX 活性,降低 MDA 含量,从而减轻盐胁迫对玉米幼苗造成的伤害。本研究结果与上述研究结果一致,本试验

在 150 mmol/L NaCl 胁迫下,紫花苜蓿种子萌发过程中的 SOD、APX、GPX 和 CAT 活性显著降低,导致 $O_2^{\cdot-}$ 、 $OH^{\cdot}$ 、 H_2O_2 及膜脂过氧化产物 MDA 大量积累。添加 0.1 μmol/L EBR 后,紫花苜蓿种子萌发过程中的 SOD、APX、GPX 和 CAT 活性均显著增加, SOD、GPX 和 CAT 能够协同清除 ROS,而 APX 可将 H_2O_2 还原为 H_2O ,因此 $O_2^{\cdot-}$ 、 $OH^{\cdot}$ 、 H_2O_2 和 MDA 含量均显著下降,使得紫花苜蓿种子萌发过程中的各种生理生化代谢活动正常进行,显著增强了紫花苜蓿种子萌发期的耐盐性。

4 结论

NaCl 胁迫下,紫花苜蓿种子萌发过程中的渗透调节能力下降,抗氧化酶活性显著降低,活性氧大量积累,种子萌发和幼苗生长明显被抑制。添加外源 EBR 对紫花苜蓿种子的发芽率、发芽势具有明显的促进作用,并显著提高种子萌发过程中的渗透调节物质含量和抗氧化酶活性,降低渗透胁迫和氧化胁迫所造成的伤害程度,维持紫花苜蓿种子萌发过程中的正常的生理生化代谢过程,促进紫花苜蓿种子萌发和幼苗生长,提高紫花苜蓿种子萌发期的耐盐性。

参考文献:

- [1] Valliyodan B, Nguyen H T. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2006, 9(2): 189—195.
- [2] Boyer J S. Plant productivity and environment[J]. Science, 1982, 218(4571): 443—448.
- [3] Zhu J K. Salt and drought stress signal transduction in plants[J]. Annu Rev Plant Biol, 2002, 53: 247—273.
- [4] 张金林,李惠茹,郭姝媛,等. 高等植物适应盐逆境研究进展[J]. 草业学报, 2015, 24(12): 220—236.
- [5] Song J, Feng G, Tian C Y, et al. Strategies for adaptation of *Suaeda physophora*, *Haloxylon ammodendron* and *Haloxylon persicum* to a saline environment during seed germination stage[J]. Annals of Botany, 2005, 96(3): 399—405.
- [6] 朱早兵,赖彩余,邹凯茜,等. 油菜素内酯及其在种子萌发过程中的生理效应研究进展[J]. 热带农业科学, 2015, 35(5): 13—18.
- [7] 王建科,王钧,胡延萍,等. 紫花苜蓿种子萌发过程中对不

- 同盐胁迫的响应[J]. 分子植物育种, 2018, 16(1): 268—274.
- [8] 熊雪, 罗建川, 魏雨其, 等. 不均匀盐胁迫对紫花苜蓿生长特性的影响[J]. 中国农业科学, 2018, 51(11): 2072—2083.
- [9] Sharma I, Pati P K, Bhardwaj R. Effects of 24-epibrassinolide on oxidative stress markers induced by nickel-ion *Raphanus sativus* L. [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2011, 33(5): 1723—1735.
- [10] 寇江涛. 外源 2,4-表油菜素内酯对 NaCl 胁迫下燕麦种子萌发和生理的影响[J]. 草地学报, 2019, 27(6): 1562—1568.
- [11] 马钱波, 谷文英. 硝普钠和油菜素内酯对盐胁迫菊苣根系渗透物质的调节作用[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(12): 99—101.
- [12] 寇江涛, 师尚礼. 2,4-表油菜素内酯对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿幼苗根系生长抑制及氧化损伤的缓解效应[J]. 中国生态农业学报, 2015, 23(8): 1010—1019.
- [13] 王舒甜, 王金平, 张金池, 等. 油菜素内酯对盐胁迫下香樟幼苗叶片抗氧化酶活性的影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2017, 43(4): 476—482.
- [14] 寇江涛, 康文娟, 苗阳阳, 等. 外源 2,4-表油菜素内酯对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿幼苗光合特性及离子吸收、运输和分配的影响[J]. 草业学报, 2016, 25(4): 91—103.
- [15] 寇江涛, 康文娟, 苗阳阳, 等. 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿幼苗微量元素吸收及叶绿素荧光动力学参数的影响[J]. 中国生态农业学报, 2016, 24(3): 345—355.
- [16] 李涛涛, 高永峰, 马瑄, 等. 外源油菜素内酯对三种杨树在干旱、盐和铜胁迫下光合生理的影响[J]. 基因组学与应用生物学, 2016, 35(1): 218—226.
- [17] 李彩凤, 刘丹, 邹春雷, 等. 盐碱胁迫下喷施 BR 对甜菜光系统 II 和氮代谢关键酶的影响[J]. 东北农业大学学报, 2018, 49(8): 39—47.
- [18] 康云艳, 杨暹, 郭世荣, 等. 24-表油菜素内酯对低氧胁迫下黄瓜幼苗碳水化合物代谢的影响[J]. 中国农业科学, 2011, 44(12): 2495—2503.
- [19] 马梅, 刘冉, 郑春芳, 等. 油菜素内酯对盐渍下油菜幼苗生长的调控效应及其生理机制[J]. 生态学报, 2015, 35(6): 1837—1844.
- [20] 寇江涛, 师尚礼. 2,4-表油菜素内酯对盐胁迫下紫花苜蓿种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 草原与草坪, 2015, 35(1): 1—8.
- [21] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [22] 寇江涛, 师尚礼, 胡桂馨, 等. 牛角花齿蓟马为害对紫花苜蓿活性氧代谢的影响[J]. 核农学报, 2013, 27(12): 1948—1954.
- [23] 严晓红, 包秋娟, 张富春. 干旱胁迫下油菜素内酯浸种对棉花种子萌发期 NAC 转录因子表达的影响[J]. 新疆农业科学, 2017, 54(8): 1414—1421.
- [24] 杨荣超, 张海军, 王倩, 等. 植物激素对种子休眠和萌发调控机理的研究进展[J]. 草地学报, 2012, 20(1): 1—9.
- [25] 李凯荣, 王健, 贺秀贤. 天然油菜素内酯对五种牧草种子发芽和胚根下胚轴伸长的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2008, 26(1): 221—225.
- [26] 程彦伟, 丁贺, 韩建明, 等. 天然油菜素内酯对豆类种子发芽和胚根下胚轴伸长的影响[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(9): 140—142.
- [27] 闫小红, 胡文海, 曾守鑫, 等. 低温胁迫下 24-表油菜素内酯对辣椒种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 华中农业大学学报, 2012, 31(5): 563—568.
- [28] 闫慧萍, 彭云玲, 赵小强, 等. 外源 24-表油菜素内酯对逆境胁迫下玉米种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 核农学报, 2016, 30(5): 988—996.
- [29] 袁红梅, 郭文栋, 赵丽娟, 等. 外源油菜素内酯对 NaCl 胁迫下亚麻种子萌发及幼苗生理特性的影响[J]. 东北农业大学学报, 2019, 50(11): 11—16.
- [30] 陆晓民, 孙锦, 郭世荣, 等. 油菜素内酯对低氧胁迫黄瓜幼苗根系线粒体抗氧化系统及其细胞超微结构的影响[J]. 园艺学报, 2012, 39(5): 888—896.
- [31] Gegg M E, Beltran B, Salas-Pino S, *et al.* Differential effect of nitric oxide on glutathione metabolism and mitochondrial function in astrocytes and neurons: implications for neuroprotection/neurodegeneration[J]. Journal of Neurochem, 2003, 86(1): 228—237.
- [32] 吴雪霞, 查丁石, 朱宗文, 等. 外源 2,4-表油菜素内酯对盐胁迫下茄子种子萌发和幼苗生理特性的影响[J]. 植物生理学报, 2011, 47(6): 607—612.
- [33] 孙珊珊, 安勤颖, 韩烈宝, 等. 外源 2,4-表油菜素内酯对多年生黑麦草幼苗耐盐性的影响[J]. 草地学报, 2014, 22(5): 1045—1050.
- [34] 周万海, 师尚礼, 寇江涛. 外源水杨酸对苜蓿幼苗盐胁迫的缓解效应[J]. 草业学报, 2012, 21(3): 171—176.
- [35] 普布卓玛, 罗艺岚, 高金柱, 等. 外源 2,4-表油菜素内酯对低温胁迫下西藏野生垂穗披碱草幼苗抗氧化保护和渗透调节的影响[J]. 草地学报, 2019, 27(3): 547—552.

Physiological responses of *Medicago sativa* seed germination induced by exogenous 2,4-epibrassinolide under salt stress

KOU Jiang-tao

(College of Life Sciences and Environmental Resources, Yichun University/Key Laboratory of Controlling and Regulating of Crop Growth and Development of Jiangxi Province, Yichun 336000, China)

Abstract: The effect of exogenous 2,4-epibrassinolide (EBR, 0.1 $\mu\text{mol/L}$) on seed germination and physiological responses of alfalfa (*Medicago sativa* cv. Longzhong and Zhongmu No. 3) under NaCl stress (150 mmol/L) were studied in order to clarify the physiological mechanism of alfalfa seed germination induced by exogenous BRs under salt stress. The results showed that 1) Under NaCl stress, the seed germination and seedling growth of two varieties were significantly inhibited, during seed germination, the activity of proteolytic enzyme increased significantly, and the content of soluble protein and soluble sugar decreased significantly, the activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX), ascorbic acid peroxidase (APX) and catalase (CAT) decreased significantly, and the accumulation of superoxide anion radicals ($\text{O}_2^{\cdot -}$), hydroxyl radicals ($\text{OH}^{\cdot}$), hydrogen peroxide (H_2O_2) and malondialdehyde (MDA) increased significantly. 2) Under NaCl stress, the addition of exogenous EBR significantly promoted the seed germination rate and germination potential of two varieties, and significantly increased the germination index, activity index, seedling height, root length, root activity and seedling dry weight of the seeds. During the germination process, the activity of proteolytic enzyme decreased significantly, soluble sugar and soluble sugar decreased significantly. The activities of SOD, GPX, APX and CAT were significantly increased, while the contents of $\text{O}_2^{\cdot -}$, $\text{OH}^{\cdot}$, H_2O_2 and MDA were significantly decreased. The results indicated that exogenous EBR could effectively alleviate the inhibition of NaCl stress on seed germination and seedling growth of alfalfa, maintain the normal physiological and biochemical metabolism process of alfalfa seed germination, reduce the damage caused by osmotic stress and oxidative stress, and improve the salt tolerance of alfalfa in seed germination period.

Key words: *Medicago sativa*; NaCl stress; 2,4-epibrassinolide; seed germination