

马铃薯试管苗对盐胁迫的生理反应

崔焱森¹, 张俊莲^{1,2*}, 李学才¹, 王 蒂^{1,2}, 黄 鹏¹, 王 丽³, 杜喜梅¹

(1. 甘肃农业大学农学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室, 甘肃 兰州 730070;
3. 甘肃农业大学生命科学技术学院, 甘肃 兰州 730070)

摘 要: 利用不同浓度的 NaCl 对马铃薯大西洋试管苗进行了 20 d 胁迫。结果发现: 随着盐浓度的增加, 根和茎叶中 Na⁺含量大幅度增加, K⁺含量基本稳定, Na⁺/K⁺呈极显著的上升趋势; 叶片中叶绿素含量下降, 但丙二醛含量增加, 质膜透性增大, 脯氨酸大量积累, 且在一定盐度下脯氨酸含量与丙二醛含量和质膜透性间呈极显著的正相关, 表明盐胁迫下脯氨酸积累的多少可反映马铃薯试管苗的受害程度。研究表明, Na⁺积累、膜透性增大和叶绿素含量下降是影响马铃薯试管苗生长的主要原因。

关键词: 马铃薯; 试管苗; 盐胁迫; 生理响应

盐渍化土壤是影响作物产量和品质的主要原因之一。马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 是我国广为种植的重要粮菜兼用型作物, 属盐敏感型^[1]。盐渍化土壤影响着马铃薯的生长发育, 特别是对其出苗有抑制作用^[2-3], 目前推广应用的品种大多耐盐性差, 个别耐盐品种因综合性状差, 不适应市场需求^[4]。因此, 研究马铃薯抗盐生理、培育符合不同育种目标的耐盐品种就显得十分重要。目前, 人们对马铃薯的试管苗^[3-5]、试管移栽苗^[6]、实生苗^[7]和普通块茎苗^[2,8]进行了盐胁迫下植株生长、生物学产量、块茎产量、块茎淀粉含量、死亡率等方面的研究, 少见盐分对马铃薯生理代谢影响的研究。本试验进行盐胁迫下马铃薯试管苗相关生理指标变化的研究, 旨在探讨马铃薯对盐伤害的反应机理, 为其抗盐生理和抗盐育种奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 实验材料及繁殖

供试材料为马铃薯栽培品种大西洋的试管苗, 由甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室保存,

收稿日期: 2006-09-24

作者简介: 崔焱森 (1983-), 男, 硕士研究生, 研究方向为植物遗传育种。

基金项目: 甘肃省科技攻关课题 (2GS054-A41-005-01) 和甘肃省农业厅生物技术项目资助。

* 通讯作者: E-mail: zhangjunlian99@yahoo.com.cn

每 20 d 在 MS 基本培养基上继代繁殖一次。培养温度为 (20 ± 2) °C, 光强 3 000 lx, 24 h 连续光照。

1.2 实验方法

1.2.1 实验处理

在 MS 基本培养基中添加不同浓度的 NaCl 构成胁迫培养基, 设置 (0 CK)、0.2%、0.4%、0.6% 和 0.8% 5 个浓度。

1.2.2 材料处理

将马铃薯试管苗带芽茎段接入上述各种胁迫培养基上, 每瓶接种 5 株, 每个处理 10 瓶, 重复 3 次。培养温度为 (20 ± 2) °C, 光强 3 000 lx, 24 h 连续光照。

1.2.3 生理指标测定

处理 20 d 时测定试管苗的 Na⁺和 K⁺、叶绿素、脯氨酸和丙二醛含量及细胞膜透性相对值。

Na⁺、K⁺提取用硫酸-三氯乙酸消煮法^[9], 6410A 型火焰分光光度计测定, 根中 K⁺、Na⁺向地上部分运输的选择性 $RS_{K,Na} = \frac{\text{根}_{[Na^+]/K^+}}{\text{叶}_{[Na^+]/K^+}}$, 并以处理占对照的百分数 (处理/对照 × 100%) 作为其指标的增长或下降幅度^[10]; 脯氨酸含量采用茚三酮比色法^[11]; 叶绿素含量采用丙酮比色法^[11]; 膜透性相对值采用电导仪法^[11]; 丙二醛含量参照赵世杰等^[12]方法。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫对马铃薯试管苗 Na⁺、K⁺含量的影响
正常情况下, 马铃薯大西洋试管苗的根和茎叶

中 K⁺含量很高, Na⁺含量很低, 具有较低的 Na⁺/K⁺比, 且根和茎叶中 K⁺含量相近, Na⁺含量也相近 (表 1)。说明马铃薯植株对钾的需求量较大, 更多的 K⁺被根系吸收并运输到茎叶中, 但其离子的选择性运输能力较差, 从而出现根和茎叶中 K⁺含量相近, Na⁺含量也相近的现象。

NaCl 胁迫后, 马铃薯试管苗对 Na⁺的吸收发生了变化。随着 NaCl 浓度的上升, 根和茎叶中 K⁺含量相对稳定, 变幅不大; 而 Na⁺含量则呈现极显著 (P<0.01) 的上升趋势 (表 1)。在 0.2%盐度下, 根和茎叶中 K⁺含量与对照基本相同, 仅是对照的 1.11 和 1.05 倍, 而 Na⁺含量则分别较对照增加了 8.62 倍和 6.69 倍; 当盐度达 0.6%时, 茎、叶中 K⁺的含量仍然变化不大, 是对照的 0.98 倍和 1.07 倍, 而 Na⁺的含量则分别是对照的 17.90 倍和 16.17 倍。说明随着盐浓度的上升, 离子选择性吸收和运输能力差马铃薯根系吸收培养基中大量的 Na⁺, 然后分配到植株的各个组织和器官中, 致使整个植株 Na⁺浓度基本相同。同时, Na⁺的吸收并不抑制 K⁺的吸收和运输, 因而不同盐浓度下植株根系和茎叶中 K⁺含量与对照差异不显著 (P>0.05)。可见, Na⁺的大量吸收和分配必然导致植株 Na⁺/K⁺比极显著 (P<0.01) 上升, 出现 Na⁺毒害, 此时植株表现为生长明显受阻, 叶片黄化、枯死等。进一步升高盐度为 0.8%时, Na⁺的毒害就更为严重, 表现为植株矮化、生长基本停止, 根的发生和生长明显受阻, 地上部生长点枯死。

表 1 盐胁迫对马铃薯试管苗 Na⁺、K⁺含量的影响

NaCl 浓度 (%)	组织	Na ⁺ (%)	K ⁺ (%)	Na ⁺ /K ⁺	RS _{K,Na}	T/CK (%)		
						Na ⁺	K ⁺	Na ⁺ /K ⁺
CK	茎叶	0.29	4.01	0.0723	0.7893	1	1	1
	根	0.21	3.68	0.0571		1	1	1
0.2	茎叶	1.94	4.22	0.4597	0.9650	6.69	1.05	6.36
	根	1.81	4.08	0.4436		8.62	1.11	7.77
0.4	茎叶	3.69	4.23	0.8723	0.9290	12.72	1.05	12.07
	根	2.95	3.64	0.8104		14.05	0.99	14.19
0.6	茎叶	4.69	3.92	1.1964	0.8730	16.17	1.07	16.55
	根	3.76	3.60	1.0444		17.90	0.98	18.29
0.8	茎叶	5.05	3.47	1.4553	1.3252	17.41	0.94	20.13
	根	5.40	2.80	1.9286		25.71	0.76	33.78

2.2 NaCl 胁迫对马铃薯试管苗叶绿素含量的影响

正常情况下, 马铃薯大西洋试管苗的叶色浓绿, 叶绿素含量较高 1.8398 mg·g⁻¹FW。低浓度 (0.2%) 盐胁迫下, 叶绿素含量呈现大幅度下降, 与对照间差异极显著 (P<0.01)。进一步梯度升高盐浓度至 0.8%时, 发现各处理间叶绿素含量呈现极显著 (P<0.01) 的下降趋势 (图 1), 此时肉眼可见各处理试管苗叶色间及与对照间的差异, 表明盐胁迫破坏了叶绿素的合成或加速了叶绿素的分解, 进而影响光合效率和植株生长。

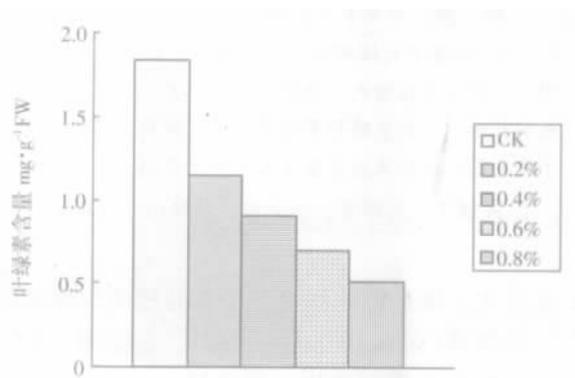


图 1 NaCl 胁迫下马铃薯试管苗叶绿素含量

2.3 NaCl 胁迫对马铃薯试管苗脯氨酸含量的影响

从图 2 可以看出, 正常条件下, 马铃薯试管苗中的脯氨酸含量很低, 为 0.058 μg·g⁻¹FW。0.2%浓度盐胁迫下, 脯氨酸含量呈现极显著 (P<0.01) 的增加。随盐浓度进一步梯度升高至 0.6%时, 脯氨酸含量呈大幅度上升趋势, 在 0.6%盐度下, 脯氨酸积累量最高, 为 0.2779 μg·g⁻¹FW, 是对照的 4.79 倍。但在 0.8%盐度下, 脯氨酸的积累反而受阻, 含量明显下降, 但此时马铃薯的试管苗生长状态却最差, 表明在一定盐浓度范围内 (0~0.6%), 脯氨

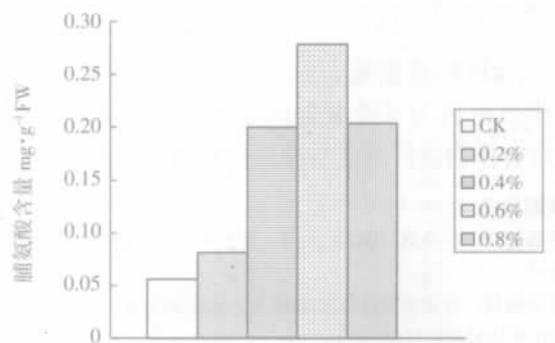


图 2 NaCl 胁迫下马铃薯试管苗脯氨酸含量

酸含量的高低反映了植株受伤害的程度, 而当盐浓度超过植株的忍耐程度时, 其组织和器官的生理代谢功能已被破坏, 此时脯氨酸含量的高低就无任何意义。

2.4 NaCl 胁迫对马铃薯试管苗丙二醛 (MDA) 含量和膜透性的影响

低浓度 (0.2%) NaCl 胁迫下, 马铃薯试管苗的 MDA 含量极显著 ($P<0.01$) 地高于对照。当 NaCl 浓度 0.4% 时, MDA 含量大幅升高, 各处理间及其与 CK 和 0.2% NaCl 间的差异都达到极显著 ($P<0.01$) 水平 (图 3), 表明 NaCl 对马铃薯试管苗的细胞膜伤害严重, 其膜脂发生严重过氧化, 致使胞内产生大量的膜脂过氧化产物- MDA。伴随着膜脂过氧化, 马铃薯试管苗的细胞膜相对透性也发生了相应改变, 其变化趋势与 MDA 含量的变化趋势基本一致 (图 4), 表明随着膜脂过氧化程度的加重, 膜的相对透性值也相应增加, 膜所具有的选择性功能丧失, 胞内内含物大量外渗。特别是在 0.8% 盐度下, 膜的相对通透性达 75.17%, 细胞的功能基本丧失, 此时试管苗叶片发黄或枯死, 新叶发生受阻, 植株基本停止生长。

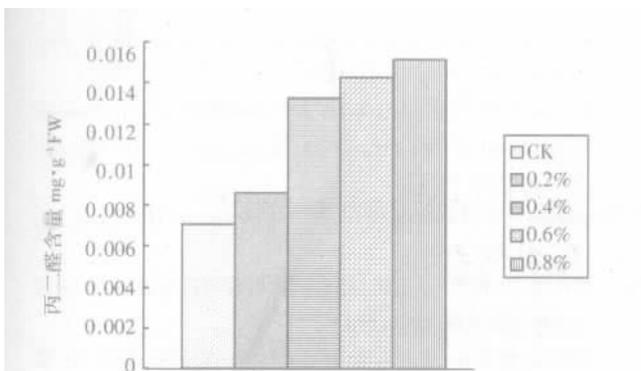


图 3 NaCl 胁迫下马铃薯试管苗丙二醛含量

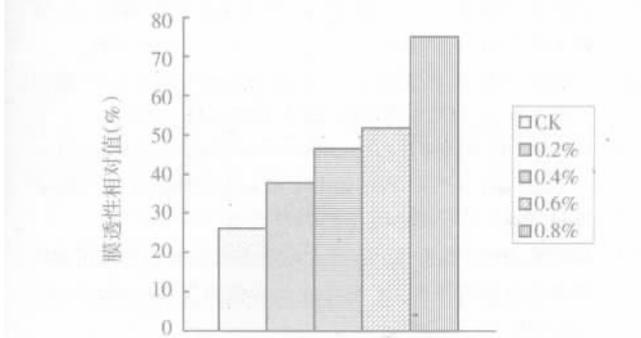


图 4 NaCl 胁迫下马铃薯试管苗膜透性相对值

2.5 NaCl 胁迫下脯氨酸含量与 MDA 含量及质膜透性间的相关性

由于 0.8% NaCl 胁迫下的脯氨酸含量不能反应马铃薯试管苗的伤害程度, 因此仅对 0.6% 盐度以下试管苗的脯氨酸含量与 MDA 含量和膜透性相对值进行了相关分析。结果发现, 在一定盐度 (0.6%) 胁迫下, 马铃薯试管苗体内的脯氨酸含量变化与 MDA 含量变化和质膜相对透性变化间呈极显著 ($P<0.01$) 的正相关, 相关系数分别为 $r=0.9406$ 和 $r=0.9981$ (图 5、图 6)。表明在一定盐浓度范围内, 随着 MDA 含量和质膜相对透性的增加, 试管苗体内脯氨酸含量也相应增加。由于 MDA 含量和质膜相对透性可表示植株受伤害的程度, 而脯氨酸含量又与 MDA 含量和质膜相对透性间呈极显著的正相关, 进一步说明在一定盐度下, 马铃薯试管苗的脯氨酸积累量可反映其受伤害的程度。

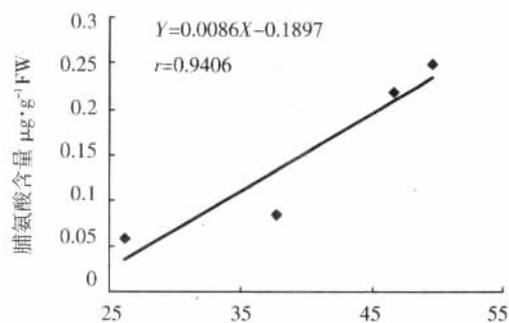


图 5 膜透性相对值 (%)

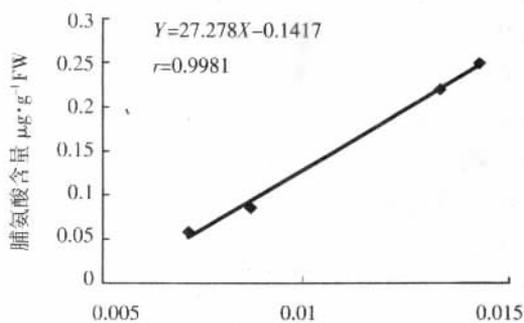


图 6 MDA 含量 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$

3 讨论与结论

盐逆境是影响植物生长发育的主要原因之一。已有的研究表明, 盐胁迫下植株吸收盐分并在体内积累, 使 Na^+/K^+ 比升高, 膜结构和功能受到伤

害, 减少并阻碍光合产物的运输^[13-15], 本研究也支持这一结论。马铃薯试管苗对盐逆境反应非常灵敏, 低盐(0.2%)浓度下, 试管苗体内的 Na^+ 含量、膜透性相对值和丙二醛含量均极显著地高于对照, 并随盐浓度的上升, 各指标表现出大幅度的上升趋势。另外, 由于马铃薯试管苗的离子选择性吸收和运输能力低下, 其茎叶和根中 Na^+ 、 K^+ 离子浓度的变化随培养基中该类离子浓度的变化而变化, 致使盐胁迫下植株茎叶和根中 Na^+/K^+ 比极显著地升高, 而 Na^+/K^+ 比的高低又反应了植物抗盐能力的大小^[13], 进一步说明了马铃薯是盐敏感型作物。

盐伤害植物的原因是因为大量的 Na^+ 造成营养亏缺; 抑制需 K^+ 酶的活性^[16]; 取代质膜上的 Ca^{2+} ^[17], 导致膜透性增加, 特别是盐胁迫下试管苗膜脂过氧化产物—MDA的大幅升高, 更加剧了膜的通透性, 致使细胞内含物大量外渗, 细胞功能基本丧失。此外, 叶绿素含量的降低又导致叶绿体内囊体膜上色素蛋白复合体损伤, 从而降低叶绿体对光能的吸收, 影响内囊体膜的垛叠, 使基粒的数量和质量下降^[18-20], 从而影响叶肉的光合活性, 导致光合产物合成受阻。

逆境下植物细胞常常进行脯氨酸的积累, 但其积累的生理意义至今仍然存在着截然相反的结论。有些研究认为逆境下脯氨酸积累的多少可以作为植物抗逆性筛选的指标^[21-22], 有些人则认为脯氨酸的积累是伤害的结果, 不能作为抗性筛选的指标, 更适宜作为一个胁迫伤害指标^[23-24]。本研究发现, 在一定盐度下, 马铃薯试管苗脯氨酸的含量与MDA的含量和质膜的相对透性间有极显著的正相关, 而MDA含量和质膜相对透性可表示植株受伤害的程度, 所以, 盐胁迫下马铃薯试管苗脯氨酸的积累量反映的是其受伤害的程度。当然, 盐度超过马铃薯的耐受力时, 脯氨酸含量的高低就无意义了。

因此, 本研究认为 Na^+ 积累、膜透性增大和叶绿素含量下降是影响盐胁迫下马铃薯试管苗生长的原因。

[参 考 文 献]

- [1] 龚家栋. 马铃薯不同品种耐盐性差异初步研究 [J]. 中国沙漠, 1996, 16(1): 61- 66.
- [2] 康玉林, 张春震, 夏佃仁, 等. 盐碱地马铃薯品种适应性研究 [J]. 马铃薯杂志, 1997, 11(1): 7- 10.
- [3] 王培伦, 孙慧生, 张振鸿, 等. 离体筛选耐盐碱马铃薯品种试验 [J]. 马铃薯杂志, 1997, 11(4): 197- 200.
- [4] 尹江, 马恢, 崔红军. 马铃薯亲本材料试管苗的耐盐性筛选 [J]. 中国马铃薯, 2005, 19(1): 13- 16.
- [5] 王新伟. 不同盐浓度对马铃薯试管苗的胁迫效应 [J]. 马铃薯杂志, 1998, 12(4): 203- 207.
- [6] 张俊莲, 陈勇胜, 武季玲, 等. 盐胁迫下马铃薯耐盐相关生理指标变化的研究 [J]. 中国马铃薯, 2002, 16(6): 323- 327.
- [7] 康玉林, 徐利群, 张春震, 等. 不同盐浓度对马铃薯实生苗的影响 [J]. 马铃薯杂志, 1996, 10(1): 17- 19.
- [8] 王新伟, 徐龙臣, 田中艳, 等. 马铃薯高淀粉资源田间抗盐鉴定 [J]. 中国蔬菜, 1999(1): 25- 28.
- [9] 王宝山, 赵可夫. 小麦叶片中 Na 、 K 提取方法的比较 [J]. 植物生理学通讯, 1995, 31(1): 50- 52.
- [10] 高辉远, 李卫军, 吐尔逊娜依, 等. Na_2SO_4 胁迫对苇状羊茅和芽茅 Na^+ 、 K^+ 吸收与分配的影响 [J]. 中国草地, 1999(5): 43- 48.
- [11] 西北农业大学植物生理生化教研室. 植物生理学实验指导 [M]. 陕西: 陕西科学技术出版社, 1987: 47- 48, 148- 151.
- [12] 赵世杰, 许长成. 植物组织中丙二醛测定方法的改进 [J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 207- 210.
- [13] 毛才良, 刘友良. 盐胁迫大麦体内 Na^+ 、 K^+ 分配与叶片耐盐量 [J]. 南京农业大学学报, 1990, 13(3): 26- 32.
- [14] 赵可夫. 植物抗盐生理 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1993: 25- 70.
- [15] Munns R, Termaat A. Whole plant responses to salinity [J]. Aust Plant Physiol, 1986, 13: 93- 123.
- [16] Cramer G R. Salt tolerance is not associated with the sodium accumulation of two maize hybrids [J]. Aust J Plant Physiol, 1994, 21: 675- 692.
- [17] Cramer G R. Kinetics of maize leaf elongation [J]. J Exp Bot, 1992, 43: 857- 864.
- [18] 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.
- [19] 贾恢先, 赵蔓蓉. 典型盐地植物叶绿体超微结构的研究 [J]. 植物学报, 1990, 10(1): 70- 72.
- [20] 朱宇旌, 张勇, 胡自治, 等. 小花碱茅茎适应盐胁迫的显微结构研究 [J]. 中国草地, 2000, 5: 6- 9.
- [21] 汤章城. 逆境条件下植物脯氨酸的积累及其可能的意义 [J]. 植物生理学通讯, 1984(1): 15- 21.
- [22] 汤章城, 王育启, 吴亚华, 等. 不同抗旱品种高粱苗中脯氨酸积累的差异 [J]. 植物生理学报, 2002, 12(2): 154- 162.
- [23] Mofrah A E, Michel B E. The effect of sodium chloride on solute potential and proline accumulation in soybean leaves [J]. Physiol Plant, 1987, 83: 238- 240.
- [24] 刘娥娥, 宗会, 郭振飞, 等. 干旱、盐和低温胁迫对水稻幼苗脯氨酸含量的影响 [J]. 热带亚热带植物学报, 2000, 8(3): 235- 238.

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2007)01-0005-06

高温胁迫对马铃薯幼苗叶片生理效应的影响

任彩虹¹, 闫桂琴¹, 郜 刚^{1,2*}, 张丽萍¹

(1. 山西师范大学生命科学学院生物多样性研究所, 山西 临汾 041004;

2. 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘 要: 以中薯3号为材料, 研究了高温胁迫对马铃薯幼苗叶片膜脂过氧化、体内保护系统以及叶绿素含量等生理效应的影响。结果表明, 在高温胁迫下, 叶片中叶绿素和抗坏血酸含量下降, 超氧阴离子自由基(O_2^-)、丙二醛(MDA)含量、脯氨酸含量上升; 超氧化物歧化酶(SOD)活性呈现先升后降的变化趋势, 而多酚氧化酶(PPO)活性却一直呈上升趋势。说明高温逆境降低了植物体防御活性氧有关的酶促和非酶促保护系统的能力, 提高了体内自由基浓度, 加剧了膜脂过氧化。由此认为高温胁迫下马铃薯幼苗体内抗氧化酶活性受到抑制, 活性氧积累以及由此引起的膜脂过氧化是马铃薯幼苗高温伤害的原因之一。

关键词: 高温胁迫; 马铃薯; 生理效应; 膜脂过氧化; 体内保护系统

植物在高温胁迫下, 体内活性氧代谢失调和自

由基积累, 引起生理代谢的紊乱, 导致细胞结构受损^[1]。植物体内同时存在两类保护系统, 一类是酶类物质, 如SOD、CAT、APX以及PPO等; 另一类是非酶类化合物, 如抗坏血酸(AsA)、脯氨酸(Pro)以及高温诱导产生的一系列蛋白质等。它们能够在一定范围内及时清除过多的活性氧以维持体内自由基

收稿日期: 2006-12-14

作者简介: 任彩虹(1982-), 女, 硕士研究生, 主要从事马铃薯分子生态学研究。

基金项目: 山西省青年基金(20051042)

* 通讯作者: E-mail: gaogang20002000@126.com

Physiological Responses of Potato Plantlets in vitro to Salt Stress

Cui Yansen¹, Zhang Junlian^{1,2}, Li Xuecai¹, Wang Di^{1,2}, Huang Peng¹, Wang Li³, Du Ximei¹

(1. Agronomy College, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China;

2. Gansu Key Laboratory of Crop Genetic Improvement and Germplasm Enhancement, Lanzhou, Gansu 730070, China;

3. Life Science and Technology College, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: The potato cultivar Atlantic plantlets in vitro were treated with different concentrations of NaCl for 20 days. The results indicated that with more salt concentration the content of Na^+ was increased dramatically, the content of K^+ was stable and Na^+/K^+ was increased significantly in the root and stem. In the leaf, the content of chlorophyll reduced, but the content of Malonaldehyde(MDA), membrane permeability and proline increased. Moreover, the content of proline was highly significantly correlated to the content of MDA and membrane permeability at a range of concentrations of NaCl, suggesting that the accumulation of proline could reflect the degree the plantlets in vitro got hurt. These results indicated that accumulated Na^+ , increase in membrane permeability and reduction in chlorophyll were the main effects on the growth of potato plantlets in vitro under salt stress.

Key Words: potato; plantlets in vitro; salt stress; physiological response