

外源物质对盐碱胁迫下垂丝海棠 生长及生理特性的影响

达建东¹, 郭润霞², 高立杨³, 李平¹

(1. 武威市农业技术推广中心, 甘肃 武威 733000; 2. 武威市农业科学研究院,
甘肃 武威 733000; 3. 武威市农业农村局, 甘肃 武威 733000)

摘要: 为探究褪黑素和 2, 4-表油菜素内酯在盐碱胁迫下对垂丝海棠生长及其生理特性的影响, 以 9~10 叶龄垂丝海棠实生苗为材料, 设置 200 $\mu\text{mol/L}$ 褪黑素喷施、200 $\mu\text{mol/L}$ 褪黑素+0.2 mg/L 2, 4-表油菜素内酯叠加喷施、0.2 mg/L 2, 4-表油菜素内酯喷施 3 个处理, 研究其对垂丝海棠盐碱胁迫下叶片叶绿素含量、相对电导率、含水量、抗氧化酶活性、游离脯氨酸含量等生理指标和光合荧光参数的影响。结果表明, 外源喷施褪黑素和 2, 4-表油菜素内酯可显著提高盐碱胁迫下垂丝海棠叶片的相对电导率、脯氨酸含量、抗氧化酶活性, 降低叶片相对含水量、叶绿素含量, 从而缓解盐碱胁迫对垂丝海棠生长的抑制。本试验中, 缓解效果由高到低依次由褪黑素、2, 4-表油菜素内酯、二者叠加使用。

关键词: 垂丝海棠; 盐碱胁迫; 褪黑素; 2,4-表油菜素内酯

中图分类号: S661.1

文献标志码: A

文章编号: 2097-2172(2024)08-0734-06

doi: 10.3969/j.issn.2097-2172.2024.08.007

Effects of Exogenous Substances on the Growth and Physiological Characteristics of *Malus halliana* under Salt-alkali Stress

DA Jiandong¹, GUO Runxia², GAO Liyang³, LI Ping¹

(1. Wuwei Agricultural Technology Promotion Centre, Wuwei Gansu 733000, China; 2. Wuwei Academy of Agricultural Sciences, Wuwei Gansu 733000, China; 3. Wuwei Agriculture and Rural Bureau, Wuwei Gansu 733000, China)

Abstract: In order to explore effects of melatonin and 2,4-epibrassinolide to alleviate the damage of combined salt-alkali stress on *Malus halliana*, in this experiment, the seedlings of *Malus halliana* with 9 to 10 leaf ages were used as the test material. Three treatments were set, i.e., 200 $\mu\text{mol/L}$ melatonin spray, 200 $\mu\text{mol/L}$ melatonin+0.2 mg/L 2,4-table brassinolide overlay spray and 0.2 mg/L 2,4-table brassinolide spray, to study the effects on chlorophyll content, relative conductivity, water content, antioxidant enzyme activity, free proline content and photosynthetic fluorescence parameters of leaves under salt-alkali stress. The results showed that exogenous application of melatonin and 2,4-epibrassinolide could significantly improve the relative conductivity, proline content and antioxidant enzyme activity of leaves under salt-alkali stress, and reduce the relative water content and chlorophyll content of leaves, so as to alleviate the inhibition of salt-alkali stress on the growth of *Malus linus*. In this experiment, the alleviating effect from high to low was melatonin, 2,4-epibrassinolide, and the combination of the two.

Key words: *Malus halliana*; Salt-alkali stress; Melatonin; 2,4-epibrassinolide

西北黄土高原是我国苹果的主产区之一, 但黄土高原的土壤多为石灰质和重度盐碱(pH 7.98 ~ 8.92), 是影响该地区苹果生长发育、果实产量和品质下降的重要因素, 严重制约了苹果产业的发展^[1]。盐碱胁迫会对植物产生渗透和离子胁迫等危害, 也会引起液泡和细胞质 pH 的变化并降低植物的光合速率, 从而影响作物的产量及产量性状^[2-4]。

果树生产中常使用耐盐碱砧木来缓解盐碱胁迫。垂丝海棠(*Malus halliana* Koehne)能在微碱性和微酸的胁迫环境下生长, 是稀少的砧木资源^[5]。因此, 耐盐碱砧木垂丝海棠的研究对提高盐碱地区苹果苗木的栽培和苹果的产量具有重要意义。

施用外源褪黑素(Melatonin, MT)可增加植物叶绿素含量, 提高光合能力, 有效增强植物对逆境

收稿日期: 2024-05-22

基金项目: 武威市自然科学基金(WW23A03RPZ006)。

作者简介: 达建东(1988—), 男, 甘肃武威人, 助理农艺师, 主要从事植物保护与检疫工作。Email: wuwei0606@163.com。

的适应能力, 并缓解盐碱、低温、干旱等胁迫环境对植物造成的伤害^[6-7]。研究表明, 外源 2, 4-表油菜素内酯(2, 4-epibrassinolide, EBR)可提高植物体内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)的活性, 增强植物体内渗透调节能力^[8-9]。寇江涛等^[10]研究表明, 油菜素内酯能有效增加作物产量, 增强植物的耐盐性、耐旱性, 缓解盐碱等逆境胁迫对植物造成的伤害。国内对于苹果盐碱胁迫的研究尚少, 且大多集中在单一外源物质对盐碱胁迫的影响。因此, 我们通过在盐碱胁迫下施用褪黑素和 2, 4-表油菜素内酯以及叠加处理, 研究其对垂丝海棠幼苗的光合系统、渗透调节系统、抗氧化酶系统等的影 响, 以期为提高苹果砧木抗性提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地位于武威市凉州区新华镇马莲村避雨棚内, 当地属温带大陆性干旱气候, 海拔 1 760 ~ 1 870 m, 年平均气温 5.8 °C, 0 °C 以上持续期 210 d, 无霜期 150 d, 年平均日照时数 2 968.7 h, 年总辐射 118.45 kJ/cm², 年均降水量 170 mm, 年均蒸发量 2 010 mm。

1.2 供试材料

供试营养液(1/2 霍格兰营养液)、褪黑素(MT)和 2, 4-表油菜素内酯(EBR)均由上海臻科生物科技有限公司生产。

垂丝海棠种子来源于试验地村民家中收集的本土垂丝海棠种子。

1.3 试验方法

将消毒后的垂丝海棠种子进行层积处理^[11], 育苗后移栽至花盆, 待幼苗生长至 7~8 叶龄移栽至室内水培箱中, 持续用电动通气泵向水培箱进行通气, 保证所有幼苗生长环境相同。每 5 d 更换 1 次营养液。待幼苗生长至 9~10 叶龄, 于 2023 年 6 月 3、5、7 日 19:00 时各喷施 1 次 MT 和 EBR, 每箱喷施 25 mL。

试验共设 3 个处理: T1, MT(200 μmol/L); T2, EBR(0.2 mg/L)+MT(200 μmol/L); T3, EBR(0.2 mg/L), 每组 10 株, 3 次重复。为防止盐激反应, 采用梯度加盐法胁迫处理。于 6 月 8 日 9:00 时采用 50 mmol/L(25 mmol/L NaCl+25 mmol/L NaHCO₃,

按摩尔比 1:1 混合)的加盐的营养液开始进行盐碱胁迫处理, 6 月 9 日将胁迫浓度提升至 100 mmol/L(50 mmol/L NaCl+50 mmol/L NaHCO₃), 6 月 12、15 日分别更换 1 次 100 mmol/L(50 mmol/L NaCl+50 mmol/L NaHCO₃)加盐营养液。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 生理指标的测定 分别于胁迫开始的 0、3、6、9 d 采摘垂丝海棠的功能叶片, 进行相对叶绿素含量(SPAD 值)、相对电导率(REC)、叶片含水量(WC)、抗氧化酶活性、游离脯氨酸(Pro)含量的测定。相对叶绿素含量采用叶绿素仪(Minolta SPAD-502 Chlorophyll Meter, Japan)进行测定; 相对电导率采用电导法测定^[12]; 将叶片于烘箱 105 °C 烘干 15 min 后, 计算叶片相对含水量; 采用氮蓝四唑光化还原法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性^[13], 采用愈创木酚法测定过氧化物酶(POD)活性, 采用酸性茚三酮法测定游离脯氨酸含量^[14]。以上指标均重复测定 6 次, 取平均值。

叶片相对含水量(%)=[(鲜重-干重)/鲜重]×100%

1.4.2 光合荧光参数的测定 胁迫 9 d 时, 选取功能叶片, 采用 LI-6400 便携式光合仪(LI-COR, Lincoln, NE, USA)9:00 时准时开始测定植株的气体交换参数: 净光合速率(P_n)、胞间 CO₂ 浓度(C_i)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r), 重复 6 次。在进行测量时, 光合仪系统温度维持在 25 °C, 测量系统采用开放式气路, 统一叶室内空气流量为 500 mL/min, 叶室内 CO₂ 的浓度为(385 ± 10) μL/L。对光合测定的叶片进行标记, 测定完成后采样, 采用 IMAGING-PAM 叶绿素荧光仪结合 Imaging WinGegE 软件测定最大荧光(F_m)、初始荧光(F_0)、调节性能量耗散[Y(NPQ)]、光化学猝灭系数(qP)、非调节性能量耗散[Y(NO)]。

1.5 数据处理

采用 Excel 2007 软件进行数据统计和作图, 采用 SPSS 22.0 软件进行单因素方差分析及显著性分析, 所有数据为平均值 ± 标准误。

2 结果与分析

2.1 盐碱胁迫对垂丝海棠生理指标的影响

2.1.1 相对电导率 相对电导率可以衡量植物细胞膜系统受损伤程度。由图 1 可知, 随着盐碱胁迫

迫时间的增加, 3 个处理的垂丝海棠的相对电导率均呈现升高的趋势。胁迫 3、6、9 d 时, T2 的相对电导率均显著高于 T1、T3 处理($P < 0.05$), 其中胁迫 9 d 时, T2 比 T1、T3 处理分别高 37.04%、25.44%, 说明 T2 处理下垂丝海棠叶片的细胞膜系统受伤害程度更严重。

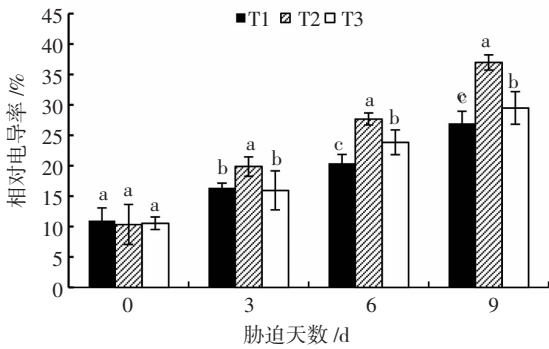


图 1 盐碱胁迫对垂丝海棠叶片相对电导率的影响

2.1.2 相对含水量 在盐碱胁迫环境下, 可以通过叶片含水量来反映植物受到伤害的程度。由图 2 可知, 随着盐碱胁迫时间的增加, 3 个处理的垂丝海棠叶片相对含水量均呈降低趋势。胁迫 3 d 时, T2 处理的叶片相对含水量显著低于 T1、T3 处理($P < 0.05$); 胁迫 9 d 时, T2 处理的叶片相对含水量下降明显, 且显著低于 T1、T3 处理($P < 0.05$), 分别低于 T1、T3 处理 32.64%、21.66%。说明盐碱胁迫下, T2 处理受胁迫程度更严重。

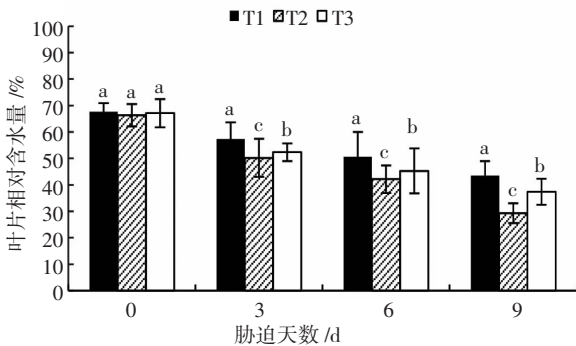


图 2 盐碱胁迫对垂丝海棠叶片相对含水量的影响

2.1.3 游离脯氨酸(Pro)含量 Pro 含量可以衡量植物渗透调节能力的强弱。由图 3 可知, 随着盐碱胁迫时间的延长, 垂丝海棠叶片游离脯氨酸含量在 3 种处理下均呈先升后降的趋势, 其中, T2 处理在 3 d 达到峰值, T1 处理和 T3 处理在 6 d 达到峰值, 且 T2 处理在 3、6、9 d 均显著低于 T1、T3 处理($P < 0.05$)。说明在盐碱胁迫下, T2 处理的渗透调节能力较弱。

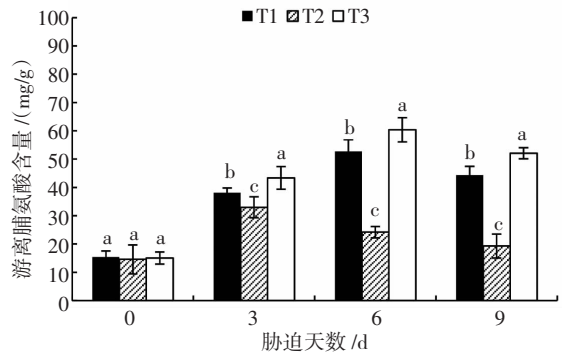


图 3 盐碱胁迫对垂丝海棠叶片游离脯氨酸含量的影响

2.1.4 SPAD 值 叶绿素含量可以确定植物光合能力的强弱, SPAD 值可以直观表明叶绿素含量趋势。由图 4 可以看出, 随着盐碱胁迫时间的延长, 3 种处理的 SPAD 值均呈降低趋势, 3、6、9 d 时 T2 处理显著低于 T1、T3 处理($P < 0.05$), 胁迫至 9 d 时, T2 处理较 T1、T3 处理分别降低 39.32%、54.34%。说明盐碱胁迫下 T2 处理叶绿素合成被抑制程度最严重。

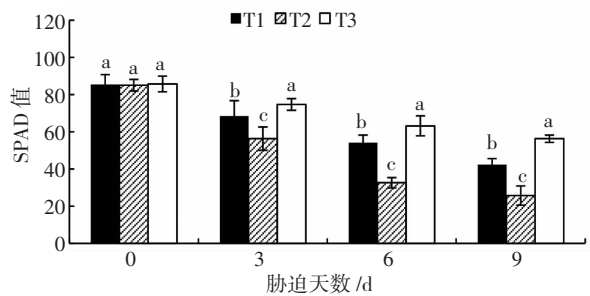


图 4 盐碱胁迫对垂丝海棠叶片 SPAD 值的影响

2.1.5 抗氧化酶活性 SOD、POD 活性可反映植物抗氧化能力强弱。由图 5、图 6 可知, 不同处理的 SOD、POD 活性均随盐碱胁迫时间的延长呈先升后降的趋势。胁迫 3 d 时, 各处理的 SOD、POD 活性均出现上升趋势, 此时 T2 处理的 SOD、POD 活性均达到峰值, 且显著低于 T1、T3 处理($P < 0.05$); 胁迫 6 d 时, T2 处理的 SOD、POD 活性下降, 且

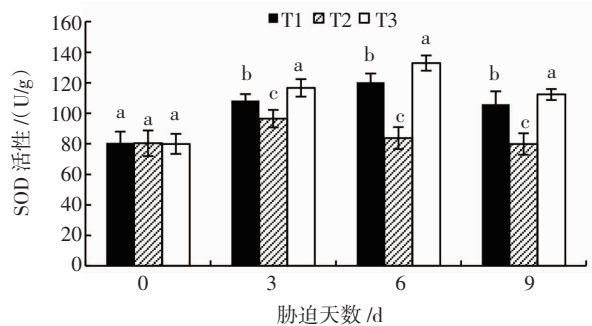


图 5 盐碱胁迫对垂丝海棠叶片 SOD 活性的影响

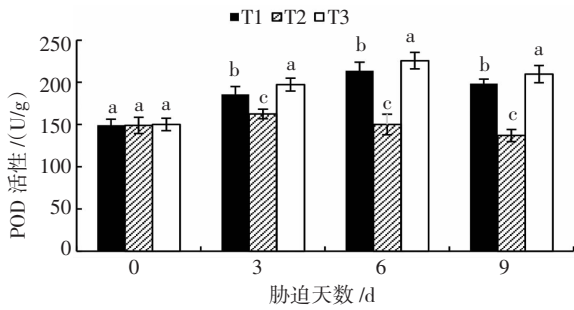


图 6 盐碱胁迫对垂丝海棠叶片 POD 活性的影响

显著低于 T1 处理和 T3 处理 ($P < 0.05$), T1 处理和 T3 处理上升达到最高。说明在 3 个处理中以 T2 处理的抗氧化能力最弱。

2.2 盐碱胁迫对垂丝海棠叶片光合荧光参数的影响

光合作用是植物能量的主要来源。由图 7 可知, 胁迫 9 d 时, T2 处理下垂丝海棠叶片的 P_n 、 G_s 、 T_r 均显著低于 T1、T3 处理 ($P < 0.05$), C_i 则显著高于 T1、T3 处理 ($P < 0.05$)。说明在盐碱胁迫下

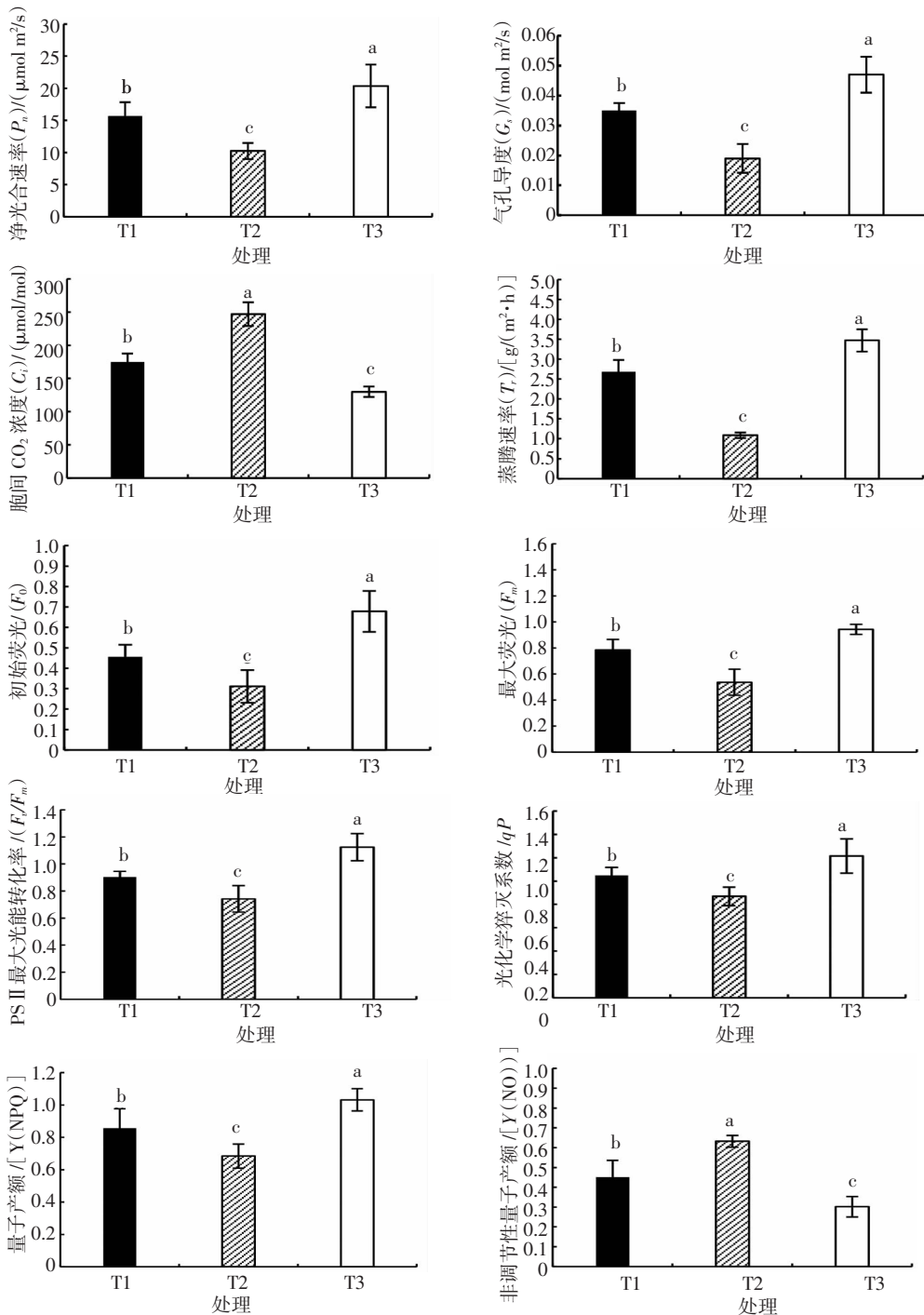


图 7 盐碱胁迫对垂丝海棠光合荧光参数的影响

叶片气孔导度及蒸腾速率下降, 无法消耗更多的胞间 CO_2 , 导致叶片的净光合速率降低。因此, 盐碱胁迫下 T2 处理的光合能力最弱。

荧光参数可以反映植物的光合能力强弱。由图 7 可知, T2 处理的 F_0 、 F_m 、 F_v/F_m 、 qP 、 $Y(\text{NPQ})$ 在盐碱胁迫至 9 d 时, 均显著低于 T1、T3 处理 ($P < 0.05$), 而 $Y(\text{NO})$ 则显著高于 T1、T3 处理 ($P < 0.05$)。以上结果表明, 盐碱胁迫下垂丝海棠靠热耗散机制的启动来消耗多余能量, 缓解光能过剩造成的伤害, T2 处理垂丝海棠叶片的光合受抑制程度大于 T1、T3 处理。

3 讨论与结论

在盐碱胁迫下, 植物体内 H_2O_2 和丙二醛 (MDA) 的过量累积会导致细胞膜脂发生氧化作用进而使细胞膜结构受损, 细胞膜通透性的增加引起细胞内电解质外渗, 相对电导率增大^[15-17]。本研究中, 各处理垂丝海棠叶片电导率随着时间的增加均呈现升高的趋势, 说明其细胞膜系统受损, 这与刘尧^[18]在唐古特白刺上的研究结果相一致。此外, 胁迫 9 d 时, 褪黑素 +2, 4- 表油菜素内酯处理的垂丝海棠叶片相对电导率显著高于其他组, 说明外源褪黑素和 2, 4- 表油菜素内酯单独喷施增强植物耐盐碱的能力优于叠加使用。

植物处于盐碱胁迫、干旱等逆境条件下, 体内会积累大量渗透调节物质, 如游离脯氨酸、可溶性蛋白、可溶性糖、有机酸等, 这些物质能够促进植物细胞的稳定性和细胞膜的完整性, 进而提高植物的抗盐碱能力^[19]。本试验中各处理垂丝海棠叶片游离脯氨酸的含量均呈先升后降的趋势, 说明植株可以通过在体内积累游离脯氨酸来应对盐碱胁迫环境, 这和刘建新等^[20]对盐胁迫下燕麦的研究结果一致。在本试验中, 褪黑素 +2, 4- 表油菜素内酯处理的垂丝海棠叶片的游离脯氨酸含量峰值显著低于其他处理, 说明其最大耐受性最低, 表明外源褪黑素和 2, 4- 表油菜素内酯有增强植物耐盐碱能力, 其作用在二者叠加后降低, 可能是由于叠加使用浓度过大或者出现了相互抑制的现象, 具体原因尚需进一步研究。

叶绿素含量一定程度上可以反映植物抗逆性, 盐碱胁迫会造成植物叶绿体降解并影响其光合作用^[21-22]。本试验中各处理的垂丝海棠叶片 SPAD

值均出现减少趋势, 表明在盐碱胁迫下叶绿素合成均受到了抑制。褪黑素 +2, 4- 表油菜素内酯处理的垂丝海棠叶片各光合荧光参数与 SPAD 值趋势一致, 说明盐碱胁迫下初始荧光的降低与叶绿素含量降低有关; 其最大光化学效率和光化学猝灭系数显著低于褪黑素和 2, 4- 表油菜素内酯单独喷施处理, 说明在盐碱胁迫下植物的光合电子传递受到抑制, 垂丝海棠叶片的光能利用率明显降低, 与胡彦波^[23]的研究结果基本一致。褪黑素 +2, 4- 表油菜素内酯处理的调节型能量耗散显著低于其他处理, 而非调节型能量耗散显著高于其他处理, 说明盐碱胁迫下, 褪黑素和 2, 4- 表油菜素内酯单独处理的热耗散能力和光保护机制强于叠加喷施处理。

当植物处在高温、低温、干旱和盐碱等逆境时, 体内会大量累积活性氧, 对植物细胞造成氧化伤害^[24]。抗氧化酶系统是植物体内防御细胞氧化损伤的酶促反应体系, 常见的抗氧化酶有 SOD、POD 和 CAT, 它们的活性可以反映植物耐逆境胁迫的能力^[25]。本试验中, 各处理的抗氧化酶活性均呈现先增强后减弱的趋势, 说明盐碱胁迫开始后, 植株的抗氧化酶系统开始缓解盐碱胁迫伤害, 并随着时间后移而降低, 这与米永伟等^[26]的研究结果基本一致。

综上所述, 外源喷施褪黑素和 2, 4- 表油菜素内酯可缓解盐碱胁迫下垂丝海棠生长的抑制, 缓解效果由高到低依次为褪黑素、2, 4- 表油菜素内酯、二者叠加使用。

参考文献:

- [1] 焦学艺. 外源多巴胺对苹果幼苗碱胁迫的缓解作用及其机理研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- [2] 王 磊. 碱胁迫对“嘎拉”苹果果实品质的影响及其机理研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018.
- [3] 贾旭梅, 朱燕芳, 王 海, 等. 垂丝海棠应对盐碱复合胁迫的生理响应[J]. 生态学报, 2019, 39(17): 6349-6361.
- [4] 党根友, 杨国虎, 朱永兴, 等. 玉米自交系成熟期耐盐碱性分析[J]. 寒旱农业科学, 2023, 2(11): 1031-1037.
- [5] 高立杨, 刘 兵, 张 瑞, 等. 褪黑素对盐碱复合胁迫下垂丝海棠光合及生理特性的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2020, 55(2): 90-97.

- [6] LI C, WANG P, WEI Z, et al. The mitigation effects of exogenous melatonin on salinity-induced stress in *Malus hupehensis*[J]. *Journal of Pineal Research*, 2012, 53(3): 298–306.
- [7] 姜超强, 祖朝龙. 褪黑素与植物抗逆性研究进展[J]. *生物技术通报*, 2015, 31(4): 47–55.
- [8] 王国杰, 李舒雯, 荆红利. 油菜素内酯对盐胁迫下玉米根系生长及保护酶活性的影响[J]. *乡村科技*, 2019(28): 92–93; 96.
- [9] 王晚霞, 高立杨, 张 瑞, 等. 2, 4-表油菜素内酯对盐碱胁迫下垂丝海棠光合及生理特性的影响[J]. *果树学报*, 2021, 38(9): 1479–1490.
- [10] 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.
- [11] 张成霞, 张衡峰, 吴 红, 等. 不同处理对湖北海棠种子萌发的影响[J]. *黑龙江农业科学*, 2014(12): 102–106.
- [12] 张振兴, 孙 锦, 郭世荣, 等. 钙对盐胁迫下西瓜光合特性和果实品质的影响[J]. *园艺学报*, 2011, 38 (10): 1929–1938.
- [13] 邓辉茗, 龙聪颖, 蔡仕珍, 等. 不同水分胁迫对绵毛水苏幼苗形态和生理特性的影响[J]. *西北植物学报*, 2018, 38(6): 1099–1108.
- [14] 党士坤, 王胜芳, 史 森, 等. 茉莉酸甲酯对木豆不定根染料木素含量及抗氧化系统影响[J]. *植物研究*, 2019(3): 466–470.
- [15] 张相锋, 杨晓绒, 焦子伟. 植物耐盐性评价研究进展及评价策略[J]. *生物学杂志*, 2018, 35(6): 91–94.
- [16] VERSLUES P E, AGARWAL M, KATIYAR-AGARWAL S, et al. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status[J]. *The Plant Journal*, 2006, 45(4): 523–539.
- [17] 杨 璐, 费永俊, 程紫涵. 盐碱胁迫下印度梨形孢对早熟禾形态和生理的影响[J/OL]. *草业科学*: 1–16 (2024-05-06)[2024-06-05]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/62.1069.s.20240430.1533.006.html>.
- [18] 刘 尧. 盐碱胁迫下唐古特白刺的生长和生理响应及其耐盐性评价[D]. 晋中: 山西农业大学, 2015.
- [19] 崔 禄. 紫花苜蓿抗盐碱能力综合评价及生理适应机制的研究[D]. 通辽: 内蒙古民族大学, 2015.
- [20] 刘建新, 王金成, 刘秀丽, 等. 外源 H₂O₂ 对混合盐碱胁迫下燕麦幼苗叶片脯氨酸积累和代谢途径的影响[J]. *植物研究*, 2016, 36(3): 427–433.
- [21] FANG S, HOU X, LIANG X. Response mechanisms of plants under saline-alkali stress[J]. *Frontiers In Plant Science*, 2021, 12: 667458.
- [22] 白锐琴. 2, 4-表油菜素内酯对干旱胁迫下辣椒叶片生理指标及果实品质的影响[J]. *寒旱农业科学*, 2024, 3(2): 141–145.
- [23] 胡彦波. 低温和盐碱胁迫下桑树光合作用的适应性研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2007.
- [24] 张碧茹, 米俊珍, 赵宝平, 等. 外源 γ -氨基丁酸缓解燕麦幼苗盐碱胁迫的生理效应[J]. *麦类作物学报*, 2024, 44(2): 222–229.
- [25] RANGANI J, PARIDA A K, PANDA A, et al. Coordinated changes in antioxidative enzymes protect the photosynthetic machinery from salinity induced oxidative damage and confer salt tolerance in an extreme halophyte *Salvadora persica* L[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 50.
- [26] 米永伟, 王国祥, 龚成文, 等. 盐胁迫对菘蓝幼苗生长和抗性生理的影响[J]. *草业学报*, 2018, 27(6): 43–51.