

外源 ABA 对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿 矿质元素和脯氨酸含量的影响

杨跃霞¹, 刘大林¹, 韩建国², 赵国琦¹, 韩娟¹, 王小山¹

(1. 扬州大学动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009;

2. 中国农业大学草地研究所, 北京 100094)

摘要: 研究不同浓度 ABA 处理对 150 mmol/L NaCl 胁迫下(水培条件)的 2 个不同品种紫花苜蓿 *Medicago sativa* (维多利亚、中苜一号)矿质元素和脯氨酸含量的影响。结果表明: NaCl 胁迫显著降低紫花苜蓿植物组织根、茎、叶的干质量。盐胁迫下各组织中积累大量脯氨酸, 分布情况为叶>茎>根, 外源 ABA 能显著提高各组织中脯氨酸的含量。且维多利亚紫花苜蓿脯氨酸含量明显高于中苜一号。与 NaCl 胁迫相比, 添加 ABA, 2 个不同品种紫花苜蓿 Na⁺ 和 Mg²⁺ 含量均降低, 而 K⁺ 和 Ca²⁺ 含量增高, 且添加浓度为 10 μmol/L ABA 时效果最好。

关键词: 氯化钠; 紫花苜蓿; 脱落酸; 脯氨酸

中图分类号: S551⁺. 703. 7

文献标识码: A

文章编号: 1001-0629(2010)05-0057-05

^{*1} 紫花苜蓿 *Medicago sativa* 号称“牧草之王”, 是多年生豆科牧草, 是世界上栽培利用最为广泛的牧草, 也是我国种植面积最大的牧草, 有适应性广、产量高、品质好、营养丰富等优点, 且耐盐碱。但在较强的盐胁迫下, 紫花苜蓿的产量、品质及粗灰分含量还是会受到显著影响^[1]。近来发现在逆境(干旱、低温、高温、盐渍等)条件下, 植物体内会有大量 ABA 积累^[2]。外源 ABA 可以提高植物的抗旱、抗冻性和抗盐性^[3-4]。且有研究表明 ABA 可以促使植物在盐渍条件下积累大量脯氨酸^[5-6]。盐胁迫对植物生长造成的危害主要包括渗透胁迫和离子毒害以及营养失衡等。盐胁迫下植物体内会积累大量的 Na⁺, Na⁺ 在植物细胞壁中的积累会导致植物细胞内缺水, 加速衰老^[7]。增加的 Na⁺ 可以通过直接干扰细胞质膜对营养元素的转运, 抑制植物对其他营养元素的吸收, 导致营养缺乏症。通过研究外源 ABA 对 NaCl 胁迫下 2 个不同品种紫花苜蓿, 矿质元素和脯氨酸含量的影响, 进一步掌握紫花苜蓿抗盐生理机理, 以期对紫花苜蓿耐盐性研究提供材料和依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料 供试紫花苜蓿品种为中苜一号和维多利亚, 中苜一号由中国农科院提供, 维多利

亚由国外引进, 该试验在扬州大学动物科学与技术学院草业科学实验室进行。

1.2 试验方法

1.2.1 培养条件 将供试种子分别在 5% NaClO 溶液中浸泡 4 min, 用无菌水冲洗种子 4 次, 然后将种子均匀撒在灭过菌的沙子上, 再在表面覆一层细沙, 将其横放在培养箱里培养 72 h。培养环境 28 °C, 光/黑: 12 h/12 h。

1.2.2 盐胁迫处理 将生长了 4 d 的小苗移入 Hoagland 培养液继续生长, 环境为相对湿度 45%, 光/黑: 30 °C/25 °C, 16 h/8 h。每周换 1 次营养液。小苗长到第 14 天, 进行 NaCl 和 ABA 处理, NaCl 溶液浓度为: 0 和 150 mmol/L, ABA 溶液浓度为 0、1、10 μmol/L, 设 T0 (CK)、T1 (NaCl)、T2 (ABA₁)、T3 (ABA₁₀)、T4 (NaCl + ABA₁)、T5 (NaCl + ABA₁₀) 6 个处理, 各处理 3 个重复, 每个重复包括 3 株, 对照 (CK) 为正常 Hoagland 培养液。NaCl 溶液分两次添加, 第 1 天添

。 收稿日期: 2009-10-19

基金项目: 2007 年公益性行业(农业)科研专项资助项目 (nyhyzx07-022)

作者简介: 杨跃霞(1983-), 女, 河南平顶山人, 在读硕士生, 牧草栽培与利用研究方向。

E-mail: yangsa_66@163.com

通信作者: 王小山 E-mail: wanggrass@163.com

加 80 mmol/L,第 2 天添加 150 mmol/L。培养液及 NaCl 溶液每 7 d 更新 1 次。

1.3 测定内容和方法

1.3.1 生物量 苜蓿幼苗根、茎、叶鲜质量及相对应干质量的测定。小苗处理 14 d 后,取鲜样称量,立即放入烘箱 120 °C 杀青 15 min,然后在 75 °C 烘 24 h 至恒质量后再称干质量。

1.3.2 矿质元素 植株不同组织器官中离子含量的测定。称取 0.1 g 左右鲜样,放入瓷坩埚中,碳化后置于马弗炉中 4 h,至样品完全灰化。若个别试样灰化不彻底,加 1 mL 混合酸(硝酸、高氯酸体积比为 4:1)反复消化完全,放凉,同时做试剂空白试验。灰渣用 5 mL 蒸馏水湿润,再加入 5 mL 1:1 硝酸溶解,然后用蒸馏水洗入 25 mL 量瓶中,待测,同时做试剂空白试验。最后用 ICP-7500 测定不同品种不同处理下,Na⁺、K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺ 元素的含量。

1.3.3 脯氨酸 植物样品中游离脯氨酸用磺基水杨酸浸提法制备,用分光光度计测定脯氨酸含量。

1.4 统计分析和数据处理 采用 Excel 软件处理数据后,用 SPSS13.0 软件进行单因素方差分析和 T 检验,采用 Duncan's 方法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 ABA 和 NaCl 处理对紫花苜蓿生长的影响 如表 1 所示,T1 处理后,与 CK 相比 2 个品种的茎、叶干质量显著降低,与 T1 相比,T4 和 T5 处理后显著($P < 0.05$)增加了 2 个品种茎和叶的干质量,且 T5 比 T4 的增加效果更明显。2 个不同品种紫花苜蓿的干质量没有明显差异,说明盐胁迫下 2 个不同品种紫花苜蓿的生物量没有明显差异,耐盐性没有明显差异,而添加 ABA 则减轻了 2 个不同品种紫花苜蓿生长被抑制的现象。

表 1 NaCl 和 ABA 处理 14 d 后 2 个紫花苜蓿品种根、茎和叶的干质量

mg/株

| 品种 | 处理 | 根 | 茎 | 叶 |
|------|----|---------------|--------------|--------------|
| 维多利亚 | CK | 11.95±0.38ab | 44.83±1.43d | 48.23±1.46cd |
| | T1 | 14.80±0.87cd | 28.89±1.77a | 35.32±1.17a |
| | T2 | 12.29±0.73abc | 42.67±1.54cd | 43.23±0.79b |
| | T3 | 15.40±0.22d | 57.28±1.22f | 54.94±1.22e |
| | T4 | 14.59±0.14bcd | 34.05±0.13b | 41.55±0.93b |
| | T5 | 15.91±0.24d | 36.54±1.58b | 51.46±0.57d |
| 中苜一号 | CK | 16.54±2.19d | 46.62±0.87de | 49.41±0.45cd |
| | T1 | 14.84±1.14cd | 29.97±1.51a | 34.73±2.37a |
| | T2 | 11.63±0.38a | 44.05±0.92cd | 40.68±0.34b |
| | T3 | 15.36±0.84d | 49.96±2.06e | 47.17±0.49c |
| | T4 | 14.90±0.60cd | 35.40±0.72b | 43.76±0.16b |
| | T5 | 15.37±0.84d | 40.59±0.52c | 42.73±1.52b |

注:表中的数值为平均值±标准误,同一器官不同处理后的不同字母者表示差异显著($P < 0.05$)。下表同。

2.2 ABA 和 NaCl 处理对紫花苜蓿根、茎和叶 Na⁺ 含量的影响 如表 2 所示,T1 处理后,2 个品种根、茎、叶的 Na⁺ 含量明显升高。T4 和 T5 处理后明显增加了 2 个品种根、茎、叶的 Na⁺ 含量。T2 和 T3 处理对 2 个品种的根、茎、叶的 Na⁺ 含量没有显著影响。从结果中还发现,T5 处理下维多利亚茎、叶中的 Na⁺ 含量比中苜一号低($P < 0.05$)。T1 处理下,2 个品种根的 Na⁺ 含量显著高

于茎和叶片的($P < 0.05$)。由此可见 NaCl 胁迫下,添加 ABA 可降低植物体内 Na⁺ 含量,减少 Na⁺ 对植物体的毒害。而且 T5 处理下,维多利亚的 Na⁺ 积累量少,受离子胁迫较小。

2.3 ABA 和 NaCl 处理对紫花苜蓿根、茎和叶的 K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺ 含量的影响 如表 2、3 所示,与 CK 相比,T1 处理降低了 2 个品种根、茎、叶的 K⁺ 含量和叶的 Ca²⁺ 含量,T4 和 T5 处理后,

表2 NaCl和ABA处理14 d后2个紫花苜蓿品种植株根、茎和叶的Na⁺和K⁺含量

mmol/g

| 品种 | 处理 | Na ⁺ 含量 | | | K ⁺ 含量 | | |
|------|----|--------------------|-------------|-------------|-------------------|--------------|--------------|
| | | 根 | 茎 | 叶 | 根 | 茎 | 叶 |
| 维多利亚 | CK | 6.22±0.19a | 6.19±0.32a | 0.98±0.06a | 60.28±0.83f | 41.87±1.35b | 29.30±1.39bc |
| | T1 | 30.09±0.49e | 26.32±0.36f | 17.24±0.21e | 23.92±0.29ab | 22.65±0.16a | 18.50±0.14a |
| | T2 | 6.82±0.47a | 5.70±0.11a | 1.21±0.07a | 60.46±0.54f | 44.18±0.42c | 33.66±0.43e |
| | T3 | 6.74±0.14a | 5.43±0.25a | 1.40±0.08a | 52.11±1.21e | 45.18±0.78cd | 31.10±0.93cd |
| | T4 | 26.01±0.32c | 21.70±0.42d | 14.01±0.75c | 25.30±0.64ab | 23.99±0.23a | 29.71±0.91bc |
| | T5 | 27.89±0.79d | 15.72±0.36b | 11.47±0.11b | 27.84±0.25c | 23.71±0.85a | 32.28±0.35de |
| 中苜一号 | CK | 6.26±0.21a | 5.64±0.10a | 1.21±0.11a | 52.49±1.31e | 43.87±0.93bc | 33.37±0.46de |
| | T1 | 36.23±0.22f | 24.08±0.40e | 19.24±0.23e | 23.44±0.48a | 22.97±0.45a | 18.64±0.17a |
| | T2 | 6.47±0.34a | 5.33±0.12a | 1.07±0.01a | 49.10±1.11d | 46.32±0.68e | 28.65±0.17b |
| | T3 | 6.67±0.32a | 5.21±0.25a | 1.20±0.08a | 50.79±2.15de | 43.12±0.53bc | 36.49±0.57f |
| | T4 | 23.88±0.43b | 21.98±1.1d0 | 17.62±0.16e | 25.29±0.34abc | 22.82±0.39a | 27.46±0.47b |
| | T5 | 25.18±0.39c | 19.17±0.20c | 15.20±0.23d | 26.56±0.46bc | 22.02±0.75a | 37.98±0.70f |

注:从鲜样为基础,下表同。

表3 NaCl和ABA处理14 d后2个紫花苜蓿品种植株的Ca²⁺和Mg²⁺含量

mmol/g

| 品种 | 部位 | Ca ²⁺ 含量 | | | Mg ²⁺ 含量 | | |
|------|----|---------------------|--------------|--------------|---------------------|-------------|-------------|
| | | 根 | 茎 | 叶 | 根 | 茎 | 叶 |
| 维多利亚 | CK | 5.26±0.33a | 10.04±0.49bc | 32.18±0.63e | 1.54±0.15a | 0.84±0.11a | 5.88±0.23b |
| | T1 | 7.07±0.30e | 10.83±0.44cd | 24.33±0.21b | 5.32±0.28d | 2.13±0.35d | 8.59±0.19de |
| | T2 | 6.10±0.28bcd | 11.14±0.27d | 30.71±0.13d | 1.49±0.12a | 0.92±0.12ab | 9.19±0.41f |
| | T3 | 6.20±0.27bcd | 10.81±0.57cd | 29.71±0.40cd | 2.11±0.04b | 1.29±0.15c | 8.11±0.10cd |
| | T4 | 6.49±0.14cde | 13.14±0.15e | 28.53±0.13c | 7.65±0.41f | 3.93±0.12g | 10.45±0.07g |
| | T5 | 6.88±0.33de | 12.90±0.55e | 34.95±0.95g | 8.43±0.11g | 4.44±0.10h | 11.86±0.21h |
| 中苜一号 | CK | 5.36±0.46ab | 8.47±0.16a | 33.56±0.53fg | 1.51±0.08a | 0.84±0.05a | 4.36±0.21a |
| | T1 | 6.92±0.12de | 9.36±0.22b | 22.75±0.13a | 4.37±0.26c | 2.36±0.15e | 7.91±0.07c |
| | T2 | 6.70±0.09cde | 9.45±0.34b | 32.33±0.23e | 2.06±0.10b | 1.12±0.04bc | 5.34±0.11b |
| | T3 | 5.91±0.18abc | 8.47±0.31a | 32.45±0.78e | 1.56±0.05a | 0.97±0.03ab | 4.28±0.17a |
| | T4 | 8.75±0.25f | 14.31±0.40f | 34.27±0.24g | 6.57±0.17e | 3.52±0.05f | 8.80±0.12ef |
| | T5 | 9.19±0.20f | 14.33±0.18f | 33.52±0.51fg | 7.83±0.15f | 4.63±0.14h | 10.70±0.19g |

2个品种叶的K⁺含量和茎、叶的Ca²⁺含量都显著高于T1($P<0.05$);T1、T4和T5处理使2个品种根、茎、叶的Mg²⁺显著含量升高($P<0.05$),且T5处理含量最高。

2.4 ABA和NaCl处理对紫花苜蓿根、茎和叶的脯氨酸含量的影响 通过图1可以看出,脯氨酸分布情况为叶>茎>根,且维多利亚品种各器官的脯氨酸含量高于中苜一号;T1处理下脯

氨酸含量显著增加,维多利亚各部位脯氨酸的增加幅度明显高于中苜一号。与T1处理下相比,T4和T5处理下维多利亚各部位脯氨酸的含量均提高,且在T5处理下,维多利亚根和茎的脯氨酸的含量最高,但叶却是T4处理下含量最高。与T1处理相比,T4和T5处理下中苜一号各部位脯氨酸的含量均提高,且在T5处理下,中苜一号各部位的脯氨酸的含量都最高。

图 1 不同处理下不同紫花苜蓿品种各部位脯氨酸含量及分布情况

注:横坐标中 W 代表维多利亚,Z 代表中苜一号。

2 个品种间各部位比较可看出,各处理下维多利亚根和茎内脯氨酸含量都明显高于中苜一号的,CK、T1 和 T4 处理下维多利亚叶内脯氨酸含量都明显高于中苜一号,而在 T5 处理时维多利亚叶内的脯氨酸含量却明显下降,且低于中苜一号的。维多利亚紫花苜蓿根的 T1、T4 和 T5 分别是 CK 的 6.7、8.0 和 9.5 倍。中苜一号紫花苜蓿根的 T1、T4 和 T5 分别是 CK 的 5.6、7.1 和 8.5 倍。由结果所得,NaCl 胁迫下,紫花苜蓿大量积累脯氨酸,以根中产生的脯氨酸量最多。

由此可见作为渗透调节物质,NaCl 胁迫下脯氨酸会迅速积累,改善自身环境适应逆境生长。而且添加 ABA 可以进一步提高紫花苜蓿的脯氨酸的含量,增强植物的适应能力和抗逆性,研究表明较高浓度的 ABA 处理下,维多利亚紫花苜蓿的抗逆能力更强。

3 讨论与结论

盐分是限制植物生长和作物产量的重要环境因素。NaCl 胁迫下,添加 ABA 可以提高植物的耐盐性,增加植株的干物质^[8]。而本研究表明,ABA 提高了紫花苜蓿的抗盐能力,使 NaCl 胁迫下的紫花苜蓿植株的生物量增加。一些报道认为 ABA 提高植物抗盐能力的原因是,ABA 提高了植物体内脯氨酸的含量,这些报道主要是适用在大麦 *Hordeum vulgare*、黄瓜 *Cucumis sativus*、湖南稷子 *Echinochloa crusgalli* 和碱蓬 *Suaeda glauca* 上^[9-11]。

NaCl 胁迫下,紫花苜蓿内脯氨酸含量显著增加^[12],可见,脯氨酸具有重要的渗透调节作用;NaCl 处理下,添加 ABA,紫花苜蓿内脯氨酸的含量均提高,可见 NaCl 胁迫下添加 ABA,可以提高紫花苜蓿的抗盐能力,这一研究结果与已发表报道^[13]相似。对于 2 个品种紫花苜蓿耐盐性比较,从本试验看,各处理下维多利亚各部位脯氨酸含量均比中苜一号高,可推断维多利亚要比中苜一号有较高的耐盐性。且盐胁迫下,添加较高浓度的 ABA 比低浓度的抗盐效果要好。

NaCl 胁迫下,维多利亚茎、叶中的 Na^+ 含量比中苜一号的低,这表明维多利亚有较高的拒盐和泌盐能力。通常植物受到 NaCl 胁迫后会影响到植物对基本养分离子的吸收,从而破坏植物正常生长的养分离子的平衡^[14],叶片的 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 值用来指示 Ca^{2+} 被 Na^+ 的置换程度,NaCl 胁迫后的植株有较高的 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 值,这会引起大量的 K^+ 从细胞液中泄漏出来^[15]。一些研究已经证明在盐胁迫条件下 Na^+/K^+ 较低对植物的抗盐能力是有益的^[16-18],试验表明,维多利亚的 Na^+ 含量较低, K^+ 含量较高,从而有保持低 Na^+/K^+ 的能力,这可能是紫花苜蓿高抗盐性的一个重要指标。

参考文献

- [1] 桂枝,高建明,袁庆华. 盐胁迫对紫花苜蓿品质和产量的影响[J]. 安徽农业科学,2008,36(19):19-23.
- [2] 谢振宇,杨光穗. 牧草耐盐性研究进展[J]. 草业科学,2003,20(8):11-17.

- [3] 李玲. 干旱条件下植物 ABA 积累对脯氨酸水平的影响. 植物学通报, 1991, 8(2): 21-25.
- [4] 刘娥娥, 宗会, 郭振飞. 干旱、盐和低温胁迫对水稻幼苗 Pro 含量的影响[J]. 热带亚热带植物学报, 2000, 8(3): 235-238.
- [5] 赵福庚, 刘友良, 章文华. 大麦幼苗叶片脯氨酸代谢及其与耐盐性的关系[J]. 南京农业大学学报, 2002, 25(2): 7-10.
- [6] 余光辉. 水分胁迫下假俭草脯氨酸积累的 ABA、Ca²⁺ 调节[D]. 广州: 华南师范大学, 2003.
- [7] 李品芳, 杨志成. NaCl 胁迫下高羊茅生长及 K⁺、Na⁺ 吸收与运输的动态变化[J]. 草业学报, 2005, 14(4): 58-64.
- [8] 赵可夫, 范海. 盐胁迫下外源 ABA 对玉米幼苗耐盐性的影响[J]. 植物学报, 1995, 37(4): 295-300.
- [9] 赵福庚, 孙诚, 刘友良, 等. ABA 和 NaCl 对碱蓬多胺和脯氨酸代谢的影响[J]. 植物生理与分子生物学, 2002, 28(2): 117-120.
- [10] 龚明, 丁念诚, 刘有良. ABA 对大麦和小麦抗盐性的效应[J]. 植物生理学通讯, 1990(3): 14-18.
- [11] 钟新榕, 郁继华. NaCl 及外源 ABA、GA3 对黄瓜幼苗膜脂过氧化的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2005.
- [12] 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.
- [13] Khadri M, Tejera N A, Lluch C. Sodium chloride-ABA interaction in two common bean cultivars differing in salinity tolerance[J]. Plant Sci, 2007: 211-218.
- [14] Wang X S, Han J G. Effects of NaCl and silicon on ion distribution in the roots, shoots and leaves of two alfalfa cultivars with different salt tolerance [J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2007, 53: 278-285.
- [15] 安国勇, 董发才, 胡楠, 宋纯鹏. 盐胁迫条件下钙对小麦根细胞膜电位和钾离子吸收的影响. 河南大学学报(自然科学版), 2002, 32(3): 25-28.
- [16] 王锁民, 陈托兄, 张金林. 6-苄氨基嘌呤和脱落酸对湖南稷子 Na⁺、K⁺ 选择性和游离脯氨酸分配的调节[J]. 西北植物学报, 2004, 24(4): 588-595.
- [17] 田晓艳, 刘延吉, 郭迎春. 盐胁迫对 NHC 牧草 Na⁺、K⁺、Pro、可溶性糖及可溶性蛋白的影响[J]. 草业科学, 2008, 25(10): 34-38.
- [18] 田晓艳, 刘延吉, 郭迎春, 等. 盐胁迫对 NHC 牧草 IAA、ABA、CaM 及 NADKase 的动态变化[J]. 草业科学, 2008, 25(11): 50-53.

Effects of ABA on the content of mineral element and proline of two alfalfa varieties under NaCl stress condition

YANG Yue-xia¹, LIU Da-lin¹, HAN Jian-guo², ZHAO Guo-qi¹,
HAN Juan¹, WANG Xiao-shan¹

(1. College of Animal Science and Technology,

Yangzhou University, Jiangsu Yangzhou 225009, China;

2. Grassland Research Institute, China Agriculture University, Beijing 100094, China)

Abstract: In the hydroponics conditions, we studied the mineral elements and proline contents of two alfalfa varieties under different exogenous abscisic acid (ABA) concentrations and 150 mmol/L NaCl. The results showed that the dry matters weight of different plant organs decreased significantly in NaCl tolerance. However, proline content accumulated seriously, which appeared differently in organs; leaf > shoot > root. Moreover, accumulations of proline were more significant under the treatment of NaCl + ABA. And the contents of Victoria were higher than Zhongmu No. 1. Compared with the NaCl treatment, the added ABA significantly decreased Na contents and Mg contents, but notably increased K contents and Mg contents. But when the concentration of abscisic acid was 10 μ mol/L, the effect was more better.

Key words: NaCl; alfalfa; ABA; proline