

外源 NO 对盐胁迫下小白菜种子萌发的影响

肖 强^{1,2}, 郑海雷²

(1. 生物资源保护与利用 湖北省重点实验室, 湖北 恩施 445000

2. 厦门大学 生命科学学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 以硝酸钠作为外源一氧化氮 (nitric oxide, NO) 供体, 研究 NO 对盐胁迫下小白菜种子萌发的影响。结果表明: 小白菜在 5‰ 盐度下生长情况最好; 较高盐度 (15‰) 下, 种子萌发和生长受到明显抑制, 30‰ 盐度完全抑制种子萌发。较低盐度海水可以作为植物生长的营养液, 促进小白菜种子萌发; 外加 0.01 mmol/L SNP 能够提高白菜种子的发芽率、发芽指数。

关键词: 小白菜; 盐胁迫; NO

中图分类号: S634.3 Q945.34

文献标识码: A

文章编号: 1008-8423(2008)03-0266-03

Effect of Exogenous NO on Germination in Cabbage under Salt Stress

XIAO Qiang², ZHENG Hai-lei²

(1. Key Laboratory of Biological Resources Protection and Utilization of Hubei Province, Enshi 445000, China;

2. School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: In this paper, effect of NO on germination of cabbage under salt stress produced by SNP was studied. The results show that cabbage under salinity of 5‰ grows better than other salinities including control treatment. The development of cabbage was inhibited under salinity of 15‰, seeds of cabbage under 30‰ salinity couldn't germinate. Low salinity of seawater could be used as nutritious solution for plants growth. We found that low concentration of SNP could increase germination rates and index significantly when cabbages were treated with various concentrations of SNP.

Key words: Cabbage; salt stress; nitric oxide

人均土地资源和淡水的日益缺乏制约着经济和社会的可持续发展, 全球约 33% 的农业用地遭受着盐碱化的影响^[1], 其中 Na^+ 和 Cl^- 是最普遍的盐害离子^[2]。耕地盐碱化降低了农作物的产量, 增加了对灌溉装置的需求, 消耗了更多的人力、物力和财力。寻找抗盐或耐盐性作物, 利用其本身的抗盐特性成为解决这一问题的重要出路之一。另一方面, 也可通过转基因技术把抗盐植物的耐盐关键基因转入作物中提高作物的抗盐性。

对于拥有 18 000 km 漫长海岸线和 20 779 km² 沿海滩涂而承受着巨大人口压力的中国来说, 发展海水灌溉农业, 其经济、社会和生态意义是可想而知的。多年来的农作物灌溉, 消耗了大量宝贵的淡水, 而随着工业社会的迅猛发展, 淡水用量猛增且受到污染程度日渐加重, 淡水成了制约城市发展和农业生产丰收的瓶颈因素, 这一点在沿海地区表现更加明显。通过对植物抗盐机制的研究, 采取合适的技术增强植物抗盐性, 发展海水灌溉农业, 经济价值是难以估价的^[1]。

近年来, 一氧化氮 (NO) 作为信号分子的研究备受关注。已证明, NO 在植物生长、发育、衰老、细胞程序

收稿日期: 2008-07-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30271065, 39970438, 39870630)。

作者简介: 肖强 (1970-) 男, 博士, 主要从事植物生理生化方面的研究。

性死亡 (PCD)、乙烯释放、抗病和对环境胁迫等各种不同形式的响应中有很大的作用。

小白菜是蔬菜生产中的重要品种,对它的研究主要着眼于不同品种的地域适应性^[3]以及施肥对小白菜叶片中硝酸盐、矿质元素含量的影响^[4]等研究;小白菜海水灌溉及外源 NO对小白菜种子萌发研究目前还未见报道。本实验以 SNP为 NO的供体,研究外源 NO对盐胁迫下小白菜种子萌发的影响,以期能够为 NO的应用及海水灌溉农业提供一些依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 种子 小白菜 (*Brassica oleracea*)种子;小白菜为十字花科芸苔属草本植物,富含矿物质和维生素;本实验所用小白菜种子为超级上海青速生杂交种,购于厦门同安种子公司。

1.1.2 主要试剂 SNP:亚硝基铁氰化钠,海水:取自厦门西海域,经高压过滤,盐度为 30‰。

1.2 实验方 法

1.2.1 材料处理 用水选法挑出较为饱满一致的小白菜种子,经过 0.1% HgCl₂消毒 30 s,再用蒸馏水洗净、凉干,置于铺有纱布的培养皿内,50粒/皿。

1.2.2 盐度梯度溶液配制 海水盐度处理设置 5个梯度,分别为:0‰、5‰、10‰、15‰、30‰,SNP处理浓度为 0.01 mmol/L。

1.2.3 方 法 在培养皿中加入上述盐度溶液 5 mL,每个处理 3个重复,移入 30℃培养箱中,光强约 200 μmol·m⁻²·s⁻¹ (PAR),每 12 h观察记录发芽种子数并用称重法补充蒸发的水分。

发芽指数 (I)按下式计算: $I = (5 \times x_1 + 4 \times x_2 + 3 \times x_3 + 2 \times x_4 + 1 \times x_5) / \text{总发芽数}$

这里 x_1 是指每隔 12 h发芽的种子数, x_2 是 12 h记录的发芽数, x_3 是 24 h记录的发芽数,依次类推^[5]。

2 结果与分 析

2.1 盐度及 SNP对小白菜种子发芽率的影响

图 1、2显示海水盐度梯度以及外加 SNP时小白菜种子的萌发情况,从图中可见,除 30‰盐度下小白菜种子未见萌发,其它各处理下,种子萌发曲线均符合 Logistic指数。总体来说,在 5‰盐度下小白菜种子发芽率最高,盐度大于 5‰,随盐度升高,发芽率曲线进入指数增长期的时间显著推迟,与此对应的是,发芽率曲线进入平台期的时间也明显滞后;当盐度达到 15‰时,种子萌发受到明显抑制,发芽数减少,发芽时间延长。外加 SNP处理显著加速了小白菜种子萌发。

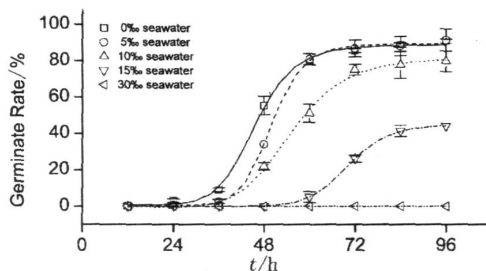


图 1 海水盐度胁迫下小白菜种子萌发曲线
Fig.1 Germination curve of cabbage seeds under seawater stress of various salinities

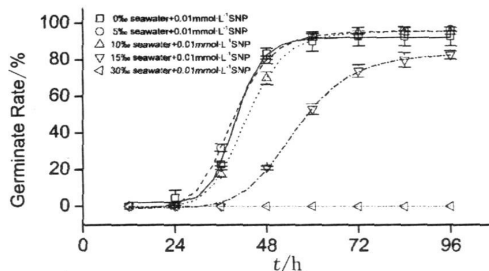


图 2 SNP对海水盐胁迫下小白菜种子萌发曲线的影响
Fig.2 Effect of SNP on the germination curve of cabbage seeds under seawater stress

图 3显示 SNP对不同海水盐度下第 48 h发芽率的影响。随着盐度的增加,发芽率下降。在各处理盐度下,加入 SNP后种子的发芽率比对应的相同盐度下的种子发芽率都显著提高,说明外源 NO可以促进小白菜种子萌发。

在海水盐度处理下,萌发率和盐度之间可以用下式描述: $y = A + B \cdot x + C \cdot x^2 + D \cdot x^3$,其中, $A = 55.33333$, $B = -6.48889$, $C = 0.57333$, $D = -0.02578$, x 为盐度(‰), $R^2 = 1$ 。而外加 SNP时,萌发率和盐度之间则可以下式描述: $y = A + B \cdot x + C \cdot x^2 + D \cdot x^3$,其中, $A = 83.33333$, $B = -2.15556$, $C = 0.51333$, $D = -0.04311$, x 为盐度(‰), $R^2 = 1$ 。从上述两方程参数也不难看出,SNP对各海水盐度处理种子第 48 h萌发

率具有显著作用。

2.2 SNP及盐度对小白菜种子发芽指数的影响

发芽率只考虑种子群中能萌发的种子数目,而没有考虑种子萌发的速度和整齐程度,发芽指数的计算则明显包含了对后两者的考虑.本研究同样采用发芽指数的计算方法来分析种子的萌发与盐度及 SNP之间的关系(图 4).从图 4 可以发现,小白菜种子的发芽指数在 0‰~5‰盐度时最大,其后,随着盐度上升,种子发芽指数迅速下降,说明 0‰~5‰的盐度区间为小白菜种子萌发的敏感区间,一定盐度(5‰)可以刺激小白菜种子发芽能力.加入 SNP后种子的发芽指数都比对应盐度下的发芽指数高,进一步证实了 SNP对小白菜种子萌发的促进效应,这与前面有关发芽率的结论是基本一致的.在海水盐度处理下,发芽指数和盐度之间可以用下式描述: $Y = A + B * x + C * x^2 + D * x^3$, 其中, $A = 0.73504$, $B = 0.00608$, $C = -0.00141$, $D = 0.00001$, x 为盐度(‰); $R^2 = 0.99903$.而外加 SNP时,发芽指数和盐度之间则可以下式描述: $Y = A + B * x + C * x^2 + D * x^3$, 其中, $A = 0.79197$, $B = 0.0052$, $C = -0.00068$, $D = -0.00001$; x 为盐度(‰); $R^2 = 0.99949$.从上述方程参数也不难看出,SNP对各盐度处理种子发芽指数具有显著提高效应,这进一步证实了 NO对种子萌发的促进能力。

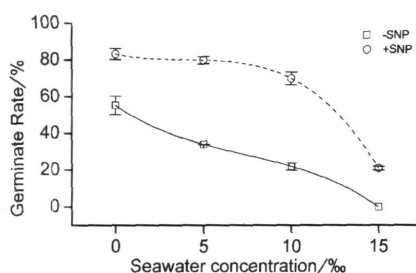


图3 海水盐胁迫下小白菜种子第 48 h 发芽率
Fig. 3 Germination rates of cabbage seeds after 48 hours of seawater stress

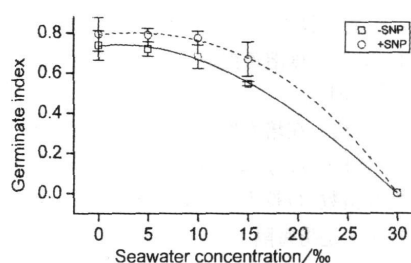


图4 海水盐度胁迫对小白菜种子发芽指数的影响
Fig. 4 Germination index of cabbage seeds under seawater stress of various salinities

3 讨论

已有研究表明,盐胁迫可以显著抑制种子萌发,降低发芽率和发芽指数,而低浓度盐可以促进下胚轴生长,增加幼苗总重^[6-7].本研究表明,海水盐度处理显著抑制小白菜种子萌发,降低 48 h 发芽率和发芽指数,随着盐度上升而抑制效果更加明显.较低盐度(5‰)可以刺激小白菜幼芽伸长,同时地上部生物量也达到最高.推测是因为 5‰盐度海水作为营养盐有利于促进种子萌发和生长,同时也避免了 $NaCl$ 对植物的单盐毒害。

NO能够促进许多植物种子的萌发,特别是光敏感种子的萌发^[8].外源 NO可以打破拟南芥和大麦种子的休眠^[9].张少颖等^[10]研究表明:合适浓度的 SNP可以提高玉米种子的发芽率,促进幼苗地上部和根的伸长生长,且有利于玉米侧根形成.周永斌等^[11]研究证实 0.1~0.3 mmol/L 外源一氧化氮供体 SNP处理豌豆、黄瓜、玉米和刺槐种子可以明显促进发芽势、发芽率;对幼苗根长、叶绿素含量和生物量也有明显的促进作用;随着 SNP浓度的增加,种子萌发和幼苗生长明显受抑制.在本研究中,0.01 mmol/L SNP可以显著提高海水盐度胁迫下小白菜种子发芽率和发芽指数,这与 SNP可以显著促进渗透胁迫下种子的萌芽、胚根和胚芽的延长的结果具有相似性^[12]。

本研究进一步表明,在海水盐度下,外加 0.01 mmol/L SNP处理,即使海水盐度达到 15‰(1/2海水盐度),小白菜种子发芽指数仍可维持在接近对照组水平,提示采用适当浓度海水灌溉小白菜,在外加适当浓度 SNP时是有可能维持小白菜正常生长发育的.这一线索的进一步研究可以为海水灌溉农业提供有力的依据,具有重大的经济和生态效益。

参考文献:

- [1] 徐质斌.海水灌溉农业的展望与对策[J].农业现代化研究,2002,23(2):89-92
- [2] 汪贵斌,曹福亮,游庆方,等.盐胁迫对 4 树种叶片中 K^+ 和 Na^+ 的影响及耐盐能力的评估[J].植物资源与环境学报,2001(下转第 293 页)

从来凤金丝桐油进行氢氧化钠甲酯化处理后的乙醚萃取液中共分离出了 24 个峰并鉴定了其中 18 种化合物的结构 (结果见表 1), 占总组分相对含量的 98.7%。鉴定的 18 种组分中包含 16 种脂肪酸、1 种杀虫剂和 1 种除草剂。杀虫剂和除草剂在油中相对含量分别为 0.35% 和 0.09%, 可能是农业生产过程中污染油桐种子所致。16 种脂肪酸中不饱和脂肪酸 12 种, 占总组分相对含量的 93.92%, 而且桐酸的总相对含量达到了 78.53%, 从而确保了来凤金丝桐油具有良好的干性油特性。

本研究未检出油酸、亚麻酸和花生二烯酸, 而检出了油酸的反式异构体和多种首次在桐油中检出了的脂肪酸, 这与文献 [3~6] 的报道有差距。值得注意的是, 共有 5 个峰的质谱特征均应被鉴定为 9, 11, 13-十八碳三烯酸, 可能是包括 α -桐酸在内的 5 种顺反异构体, 但仅依据质谱图提供的信息很难准确地鉴定出各种异构体的顺反式, 在此将这 5 种顺反异构体统称为桐酸。这 5 种顺反异构体的相对含量分别为 35.91%、21.65%、4.9%、0.48% 和 15.59%。这与文献 [3~6] 所报道的桐油中的 α -桐酸含量均存在较大差异, 而桐酸总含量与文献一致。我们认为, 这种桐酸组成上的差异可能正是来凤金丝桐油的化学特征, 但是否是其品质优良的化学本质, 还需要更深入的研究和更全面的评价。

由于桐油的化学组成及脂肪酸的相对含量受油桐的品种、生长地域、采收季节、压榨与精制工艺等因素影响, 因此在评价和比较桐油的品质时, 在化学组成指标上还需要进行更全面的考虑。

参考文献:

- [1] 陈炳章. 油桐栽培技术 [M]. 北京: 金盾出版社, 1996: 32, 38, 55, 125.
- [2] 仇明华, 朱苗力, 段友构, 等. 论桐籽浸油 [J]. 吉首大学学报: 自然科学版, 1994, 15(5): 44-46.
- [3] 付梅轩, 陈燕. 我国主要产区的桐油脂肪酸组成 [J]. 中国油脂, 1985(1): 2-8.
- [4] 付梅轩, 陈燕. 桐油中桐酸的含量测定方法 [J]. 中国油脂, 1985(1): 17-21.
- [5] 刘家欣, 朱苗力, 黄诚, 等. 湘西桐油中脂肪酸的气相色谱-质谱法分析 [J]. 化工世界, 1998(9): 493-494.
- [6] 何方, 何柏, 王承南, 等. 油桐产品质量等级标准制定说明 [J]. 经济林研究, 2005, 23(4): 118-122.

(上接第 268 页) 10(1): 30-34

- [3] 常绍东, 黄邦海, 王佩卿, 等. 广州地区若干小白菜品种适应性试验 [J]. 中国蔬菜, 1997(1): 29-30.
- [4] 周永祥, 袁玲. 小白菜 (*Brassica chinensis*) 叶片硝酸盐与矿质元素含量的研究 [J]. 西南农业大学学报, 2000(6): 253-260.
- [5] Leather GR, Eirheilig FA. Bioassays in the study of allelopathy [M]. In: Punam AR and Tang CS (eds). The science of Allelopathy. John Wiley & Sons, New York, 1986: 133-145.
- [6] 何欢乐, 蔡润, 潘俊松, 等. 盐胁迫对黄瓜种子萌发特性的影响 [J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2005, 23(2): 148-152.
- [7] 陈年来, 马国军, 张玉鑫, 等. 甜瓜种子萌发和幼苗生长对 NaCl 胁迫的响应 [J]. 中国沙漠, 2006, 26(5): 814-819.
- [8] Giba Z, Grubisic D, Konjevic R. Nitrogen oxides as environmental sensors for seeds [J]. Seed Science Research, 2003, 13: 187-196.
- [9] Bethke PC, Gubler F, Jacobsen JV, et al. Dormancy of Arabidopsis seeds and barley grains can be broken by nitric oxide [J]. Planta, 2004, 219(5): 847-855.
- [10] 张少颖, 任小林, 程顺昌, 等. 外源一氧化氮供体浸种对玉米种子萌发和幼苗生长的影响 [J]. 植物生理学通讯, 2004(3): 309-310.
- [11] 周永斌, 殷有, 苏宝玲, 等. 外源一氧化氮供体对几种植物种子的萌发和幼苗生长的影响 [J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(3): 316-318.
- [12] Zhang H, Shen W, Ben-Bajou Xu L, Lang-Lai J. Effects of nitric oxide on the germination of wheat seeds and its reactive oxygen species metabolism under osmotic stress [J]. Acta Botanica Sinica, 2003, 45(8): 901-905.