

盐胁迫对金盏菊生长、抗氧化能力和盐胁迫蛋白的影响

刘爱荣¹, 张远兵², 方园园¹, 李伟¹, 陈志扬¹

(1. 安徽科技学院生命科学院, 安徽 凤阳 233100; 2. 安徽科技学院城建与环境学院, 安徽 凤阳 233100)

摘要:用 NaCl 浓度为 0(对照), 10, 50, 100, 200, 300 mmol/L 分别处理金盏菊, 对不同盐浓度下金盏菊生长、抗氧化能力和盐胁迫蛋白的变化进行了研究。结果显示, 在不同浓度 NaCl 胁迫下, 与对照相比, 金盏菊鲜重、干重、叶绿素含量、SOD 和 POD 活性均呈先上升后下降趋势, 而 MDA 含量呈先下降后上升趋势; Na⁺ 含量、细胞质膜透性呈上升趋势, 而根系脱氢酶活性、K⁺ 含量、CAT 活性则呈下降趋势。电泳结果显示, POD 有 8 个谱带; 10 mmol/L NaCl 处理诱导盐胁迫蛋白产生, 而其他浓度盐胁迫均无盐胁迫蛋白诱导产生。因此, 10 mmol/L NaCl 处理对金盏菊生长有一定促进作用, 而随着 NaCl 浓度逐渐增加, 其生长受抑制程度也逐渐加重。综合分析表明, 金盏菊耐盐阈值为 100 mmol/L。

关键词:金盏菊; NaCl 胁迫; 生长; 抗氧化酶; 膜稳定性; 盐胁迫蛋白

中图分类号: Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-5759(2011)06-0052-08

* 据统计, 全世界盐渍土面积约有 $9.5 \times 10^8 \text{ hm}^2$ ^[1]。我国的盐渍土面积约 $1 \times 10^8 \text{ hm}^2$ ^[2], 并随着生态环境的恶化和不合理地开发利用, 仍在进一步扩大^[3]。土壤盐渍化是影响农业生产、生态环境以及可持续发展的严重问题^[4]。有报道, 盐渍化土壤对观赏植物生长发育及观赏价值有不良影响^[5,6]。因此, 通过研究观赏植物的耐盐机制, 挖掘观赏植物品种的耐盐能力, 合理利用耐盐的观赏植物资源, 对盐渍化土壤的生态环境进行改良和美化已成为国内外研究的热点之一, 为此, 研究观赏植物的耐盐性及其机理具有重要的理论和现实意义。

金盏菊(*Calendula officinalis*)为菊科(Asteraceae)金盏菊属(*Calendula*), 二年生草本植物。原产欧洲南部, 现世界各地都有栽培。金盏菊喜阳光充足环境, 能耐-9℃低温, 生长快, 不择土壤, 适应性很强; 其花期长, 花色鲜艳夺目, 是早春园林中常见的草本花卉, 又可作为草坪的镶边花卉、切花及盆栽观赏^[7,8]; 金盏菊花中含有齐墩果酸等多种次生物质, 对人体健康十分有益, 也是常见药用植物, 具有抑制肿瘤细胞、减轻化疗和放射治疗的副作用、抗炎、抗氧化、保护心血管、抗病原体^[9,10]等作用。此外, 金盏菊抗二氧化硫能力很强, 对氰化物及硫化氢也有一定抗性, 还是优良抗污花卉^[11], 现已成为我国重要的草本花卉之一^[7]。关于金盏菊的栽培^[7]及配方施肥^[7,12-14]、耐旱性^[15]、对 Cd 和 Pb 积累能力^[16]、利用城市生活污水能力^[17]和次生物质研究^[18,19]等已有相关报道。尽管具有多种用途的金盏菊越来越受到人们的关注, 但对其耐盐生理机制鲜见报道。为此, 本试验以金盏菊为材料, 研究不同浓度 NaCl 对金盏菊生长、抗氧化能力和盐胁迫蛋白诱导的影响, 旨在为金盏菊抗盐性、耐盐阈值确定、合理利用金盏菊改良盐渍土壤和美化环境提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

金盏菊种子由北京群芳普园艺公司提供。

1.2 金盏菊培养与 NaCl 处理

2009年12月28日将金盏菊种子播于装有等量干净细砂的塑料盆(高10 cm, 直径8 cm)中, 每盆播5粒种子, 共66盆。喷透水, 置于日光温室中萌发。出苗后用1/2浓度的Hoagland营养液浇灌培养, 第20天进行选苗, 各盆留取长势一致幼苗1株, 以后各项管理措施一致。生长至次年3月16日, 进行NaCl处理。NaCl处理的

* 收稿日期: 2010-09-07; 改回日期: 2010-10-20

基金项目: 安徽省科技厅 2009 年度攻关计划项目(09020303081), 蚌埠市花卉科技专家大院(蚌科 200968)和安徽科技学院重点学科(AKXX20101-3)资助。

作者简介: 刘爱荣(1966-), 女, 安徽怀宁人, 教授, 硕士。E-mail: arliu88@tom.com

预定浓度为 10, 50, 100, 200, 300 mmol/L, 以上各浓度 NaCl 溶液用完全 Hoagland 营养液配制, 以不加 NaCl 的 Hoagland 营养液作为对照, 每处理 11 个重复。为避免盐胁迫效应, 盐浓度每天递增 50 mmol/L, 直至预定浓度, 然后每天定时、定量按预定盐浓度浇灌 1 次, 处理液浇灌量为持水量的 3 倍, 约 2/3 的溶液流出, 从而将以前的积余盐冲洗掉, 以保持 NaCl 浓度恒定。处理 30 d 后, 测定有关生理指标, 生物量每个处理 4 株; 生理指标每个处理 3 个重复, 结果取其平均值。

1.3 鲜重和干重的测定

将整株金盏菊从培养盆中完整取出, 用自来水快速洗净, 再用蒸馏水迅速冲洗 3 次, 用吸水纸吸干表面水分, 立即称鲜重。后将新鲜材料置 105℃ 烘箱中杀青 10 min, 转至 65℃ 烘干, 称干重。

1.4 叶绿素含量、根系活力、Na⁺ 和 K⁺ 含量的测定

取生长部位一致叶片测定叶绿素含量^[20]。取根尖样品用三苯基氯化四氮唑法测定根系脱氢酶活性^[20]。取同一部位叶干样分别研磨, 过 1 mm 筛, 称取 50 mg, 置马弗炉(500℃)中灰化。灰分用浓硝酸溶解, 用无离子水定容后, 置于 50 mL 三角瓶中, 用 FP640 型火焰光度计分别测定 Na⁺ 和 K⁺ 含量。

1.5 抗氧化酶活性的测定、过氧化物酶(peroxidase, POD)同工酶和盐胁迫蛋白聚丙烯酰胺凝胶电泳

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性测定采用氮蓝四唑(NBT)法^[20], 以抑制 NBT 光化还原 50% 作为一个酶活单位。POD 活性测定采用愈创木酚法, 以每 min 内 A₄₇₀ 变化 0.01 的酶量为 1 个酶活性单位(U)^[21], 以 U/(g FW · min) 表示。采用紫外吸收法测定过氧化氢酶(catalase, CAT)活性^[20], 以每 min 内 A₂₄₀ 减少 0.1 的酶量为 1 个酶活性单位(U), 以 U/(g · min) 表示。

POD 同工酶聚丙烯酰胺凝胶电泳采用何忠效和张树政^[22]方法进行。凝胶分别为 4% 的浓缩胶和 7% 的分离胶, 电泳电压分别为 80 和 120 V, 电泳温度为 4℃。待溴酚蓝刚移出胶板时关闭电源, 将剥下凝胶用蒸馏水冲洗 3 遍, 放入 H₂O : 0.3% H₂O₂ : 4% NH₄Cl : 5% EDTA-Na₂ : 2% 联苯胺 = 9 : 1 : 1 : 1 : 1 的染色液中, 振荡染色, 直至显现蓝色条带。盐胁迫蛋白 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳按照文献^[23]方法进行。POD 和盐胁迫蛋白染色后凝胶, 用 AlphaImager(IS-220USA)凝胶成像系统拍照。

1.6 丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量和质膜透性的测定

取生长部位一致的叶片, 用硫代巴比妥酸(TBA)法^[20]测定 MDA 含量; 取生长部位一致的叶片测定细胞质膜透性^[20]。

1.7 统计分析

采用 Microsoft Office Excel 2003 软件对数据作预处理, 用 DPS 软件进行单因素方差分析, 并对平均数作 Duncan's 新复极差法多重比较。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对金盏菊生长状况和单株鲜重及干重的影响

与对照相比, 10~100 mmol/L NaCl 胁迫下, 金盏菊植株外观长势受抑制不明显(图 1); 而 200~300 mmol/L NaCl 胁迫下, 其生长明显受抑制。与对照相比, 盐胁迫下金盏菊鲜重和干重呈先上升后下降趋势(图 2)。在 10 mmol/L NaCl 胁迫下, 其单株鲜重和干重比对照增加 10.50%, 1.38%; 在 50~300 mmol/L NaCl 胁迫下, 其单株鲜重和干重分别比对照降低 0.50%~45.40%, 2.30%~48.62%。

2.2 盐胁迫对金盏菊叶绿素含量和根系脱氢酶活性的影响

与对照相比, 盐胁迫下金盏菊叶绿素含量呈先上升后下降趋势(图 3A)。在 10 mmol/L NaCl 胁迫下, 其叶绿素含量比对照组增加了 8.69%; 而在 50~300 mmol/L NaCl 胁迫下, 则比对照减少 7.16%~40.88%。与对照相比, 盐胁迫下金盏菊根系脱氢酶活性呈下降趋势(图 3B)。在 10~300 mmol/L NaCl 胁迫下, 其根系脱氢酶活性比对照下降了 4.52%~63.30%。

2.3 盐胁迫对金盏菊 Na⁺ 和 K⁺ 含量的影响

与对照相比, 盐胁迫下金盏菊叶 Na⁺ 含量呈上升趋势(图 4); 在 10~300 mmol/L NaCl 胁迫下, 其 Na⁺ 含量比对照增加了 1.37~7.41 倍。盐胁迫下, 其叶中 K⁺ 含量呈下降趋势; 在 10~300 mmol/L NaCl 处理下, K⁺ 含量分别比对照减少了 29.67%~66.99%。



图 1 盐胁迫 30 d 金盏菊的生长状况

Fig. 1 The growth status of *C. officinalis* under different concentration NaCl stress for 30 d

2.4 盐胁迫对金盏菊 SOD、POD 和 CAT 活性、POD 同工酶活性和表达的影响

与对照相比,盐胁迫下金盏菊叶片 SOD 活性呈先上升后下降趋势(图 5A)。当 NaCl 浓度为 10~100 mmol/L 时, SOD 活性逐渐增加,且是对照的 1.73~2.43 倍;当 NaCl 为 200 mmol/L 时, SOD 活性仍高于对照的 50.73%,但低于 10~100 mmol/L NaCl;而当 NaCl 为 300 mmol/L 时,则只有对照的 50.75%。与对照相比,当 NaCl 浓度为 10~100 mmol/L 时, POD 活性呈上升趋势,是对照的 0.56~4.01 倍(图 5B);与 100 mmol/L NaCl 相比,当 NaCl 为 200~300 mmol/L 时,其活性呈下降趋势,但仍均高于对照,为对照的 2.84~2.57 倍。

POD 同工酶聚丙烯凝胶电泳图谱(图 6)显示,对照和 10 mmol/L NaCl 处理,金盏菊叶中 POD 同工酶有 6 种,分别为 POD1、POD2、POD3、POD4、POD5 和 POD6;当 NaCl 为 50~300 mmol/L 时,除上述 6 种同工酶外,还诱导出 POD7 和 POD8 2 种同工酶。随着 NaCl 浓度升高,8 种 POD 同工酶活性均呈先增强后减弱趋势;各同工酶中又以 POD1、POD2 和 POD6 活性较强,其他同工酶活性较弱。

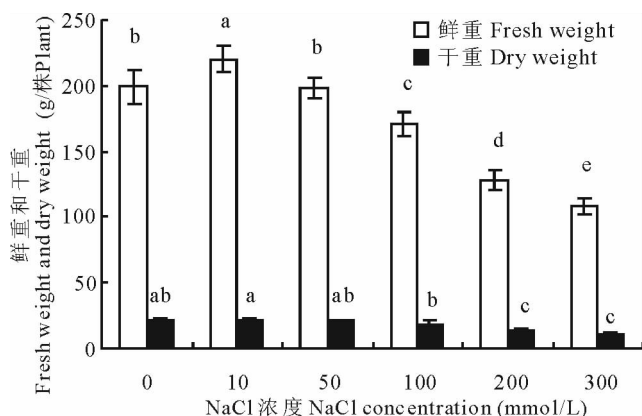


图 2 盐胁迫对金盏菊鲜重和干重的影响

Fig. 2 Effect of salt stress on the fresh weight and dry weight of *C. officinalis*

相同颜色的柱子上标有不同字母者表示在 $P < 0.05$ 水平上差异显著,下同。Within same parameters, bar with different letters were significantly different at $P < 0.05$, the same below.

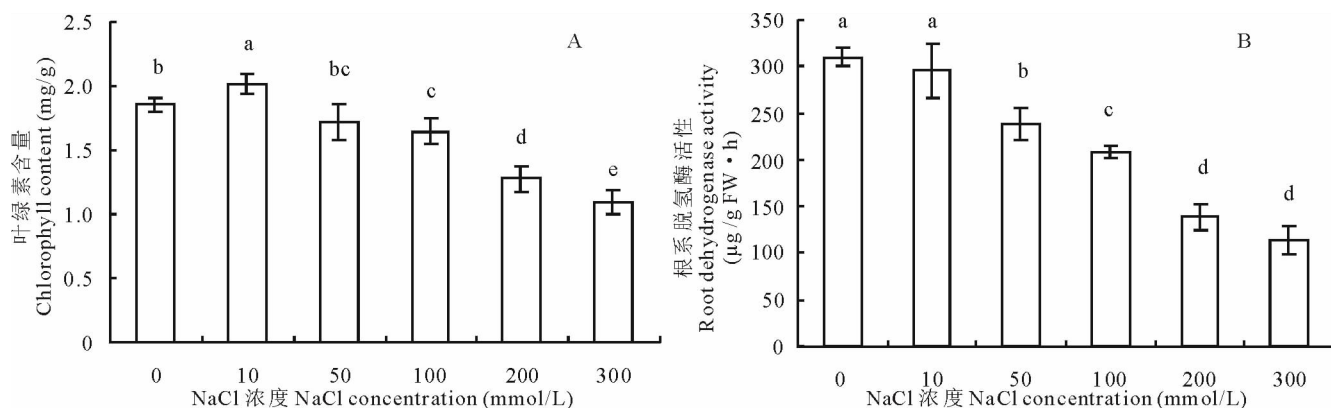


图 3 盐胁迫对金盏菊叶绿素含量(A)和根系脱氢酶活性(B)的影响

Fig. 3 Effect of salt stress on chlorophyll content (A) and the root dehydrogenase activity (B) of *C. officinalis*

与对照相比,盐胁迫均降低金盏菊叶片 CAT 活性,且随着盐浓度的增加,下降幅度增大(图 7)。在 NaCl 浓度为 10 mmol/L 胁迫下,CAT 活性比对照低 1.14%,差异不显著;当 NaCl 为 50~300 mmol/L 时,比对照下降了 24.94%~49.16%,差异显著。

2.5 盐胁迫对金盏菊 MDA 含量和细胞质膜透性的影响

与对照相比,盐胁迫下金盏菊叶片 MDA 含量呈先下降后上升趋势(图 8A)。在 10~50 mmol/L NaCl 胁迫下,其 MDA 含量是对照的 78.66% 和 92.70%;在 100~300 mmol/L NaCl 胁迫下,则比对照增加了 3.02%~98.52%。与对照相比,盐胁迫

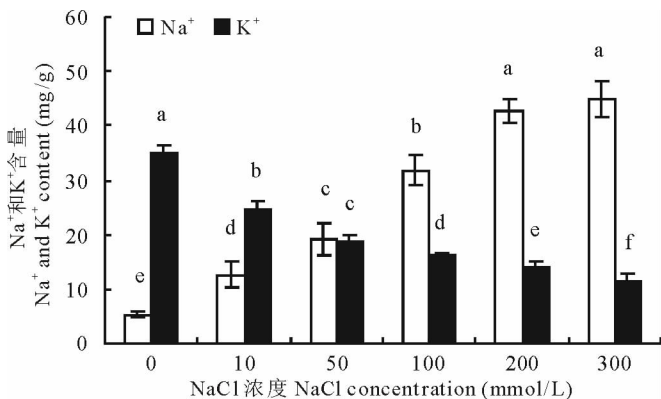


图 4 盐胁迫对金盏菊叶 Na⁺ 和 K⁺ 含量的影响
Fig. 4 Effect of salt stress on Na⁺ and K⁺ content of *C. officinalis* leaf

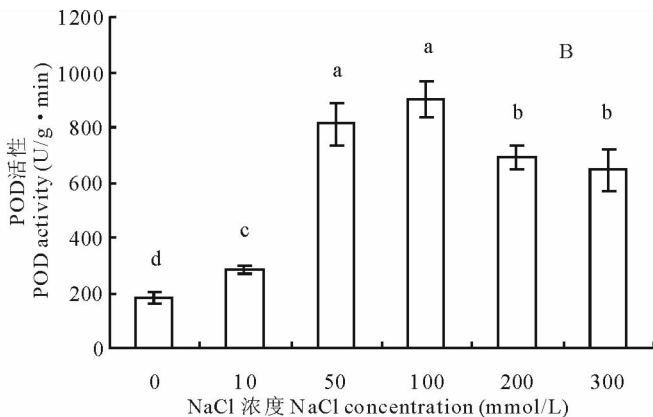
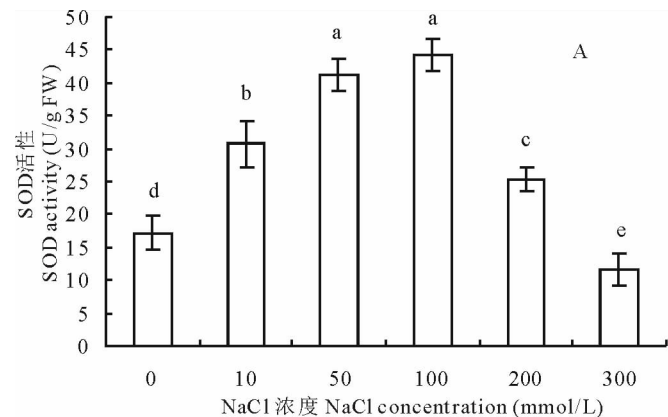


图 5 盐胁迫对金盏菊 SOD (A) 和 POD (B) 活性的影响

Fig. 5 Effect of salt stress on SOD (A) and POD (B) activity of *C. officinalis*

胁迫下金盏菊叶片细胞质膜透性呈上升趋势(图 8B)。在 10~300 mmol/L NaCl 胁迫下,其细胞质膜透性比对照增加 1.17~3.33 倍。

2.6 盐胁迫下金盏菊盐胁迫蛋白的诱导生成

对照和盐胁迫下,蛋白表达 SDS-PAGE 图谱均有 Protein 1、Protein 2、Protein 3、Protein 4、Protein 5 和 Protein 6(图 9),且对照和 10~100 mmol/L NaCl 胁迫下,Protein 1~6 表达量变化不明显,而在 200~300 mmol/L NaCl 胁迫下,其表达量明显下降。在 10 mmol/L NaCl 胁迫下,图谱中增加 1 条带,如图 9 左侧箭头所示。盐胁迫蛋白指植物在受到盐胁迫时合成新的或合成增强的蛋白质^[12],由此可知,这个谱带即为盐胁迫蛋白。

3 讨论

Woolley^[24]研究表明,在培养介质中加入 1 mmol/L NaCl 后,番茄(*Solanum lycopersicum*)干

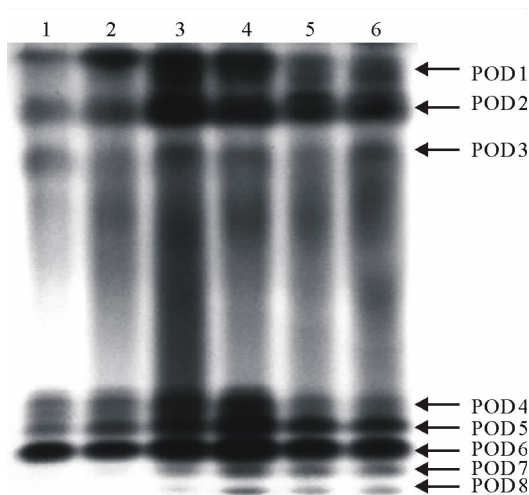


图 6 盐胁迫对金盏菊 POD 同工酶的影响

Fig. 6 Effect of salt stress on POD isoenzyme and their activities of *C. officinalis*

图中泳道 1,2,3,4,5,6 分别为 0,10,50,100,200,300 mmol/L NaCl 处理,下同。The lanes of 1, 2, 3, 4, 5, 6 in figure were the treatment of NaCl 0, 10, 50, 100, 200, 300 mmol/L, the same below.

重增加 12%，并认为钠对番茄生长有促进作用。有报道，低浓度(2.5 和 5.0 mmol/L) NaCl 处理下，小麦(*Triticum aestivum*)干重与对照相比分别增加了 15.0% 和 10.0%，并认为植物最适盐浓度均较低，不同植物最适盐浓度及其促进效应大小不同^[25]。本试验中，金盏菊在用 10 mmol/L NaCl 处理 30 d 后，其单株鲜重和干重高于对照的 10.5% 和 1.4%。结果表明，其最适盐浓度较低，为 10 mmol/L NaCl，本研究结果和上述研究是类似的；而当 NaCl 为 50~100 mmol/L 胁迫 30 d 后，其单株鲜重和干重均大于对照的 85%，且其花朵数和花径与对照差异不大，表明金盏菊能耐 100 mmol/L NaCl 胁迫；但用 200~300 mmol/L NaCl 胁迫，其长势明显下降，表明随盐浓度进一步增加，物质积累量明显减少，盐胁迫产生伤害进一步加重，对金盏菊生长的抑制作用更为严重。

Matoh 和 Murata^[26]认为少量钠有利于植物叶绿素的合成；有研究表明，低浓度钠可以增加植物叶绿素的含量，由于叶绿素参与光能的吸收、传递和转化，从而促进光合作用^[27]。本试验中低浓度 NaCl (10 mmol/L)处理，增加了金盏菊叶绿素含量，其结果和前人的研究是一致的；但随着盐浓度进一步增加，叶绿素含量呈下降趋势，可能是高浓度 NaCl 对叶绿体膜系统产生伤害，片层逐渐解体，叶绿体老化加快以至瓦解^[28]，叶绿素合成受阻或加速分解所致，从而导致光合能力下降，生长受抑制。还原氯化三苯基四氮唑(TTC)能力是测定与呼吸有关的琥珀酸脱氢酶活性指标^[21]。盐胁迫下根系脱氢酶活性下降，但与对照相比，在 10 mmol/L NaCl 处理下，其活性差异不显著，表明低浓度 NaCl 对其根系呼吸作用影响不大，但随着盐浓度增加，其活性明显下降，表明根系呼吸作用受影响加剧，根系主动吸收功能也会因此下降，从而使生长受抑制。

盐分抑制植物生长原因之一是特定盐离子或过量离子效应造成^[29]。还有研究者认为植物的盐害包括离子毒害、营养缺乏等危害^[30]。在盐渍条件下，金盏菊根系在吸收水分、矿质营养的同时不可避免地吸收 Na⁺，随 NaCl 浓度的升高，Na⁺含量也逐渐增加，而 K⁺含量则逐渐减少等试验结果表明，10 mmol/L NaCl 处理下，金盏菊 Na⁺和 K⁺少量的增减，没有干扰 Na⁺和 K⁺稳态，故其生长不受影响，甚至少量的 Na⁺对其生长有一定的促进作用；而随着 NaCl 浓度升高，由于金盏菊吸收过多的 Na⁺可能限制了对 K⁺的吸收，造成 K⁺营养亏缺，因此，Na⁺毒害和 K⁺缺乏逐渐加重，Na⁺和 K⁺稳态受干扰程度逐渐增强，从而造成伤害效应，引起生长量下降。

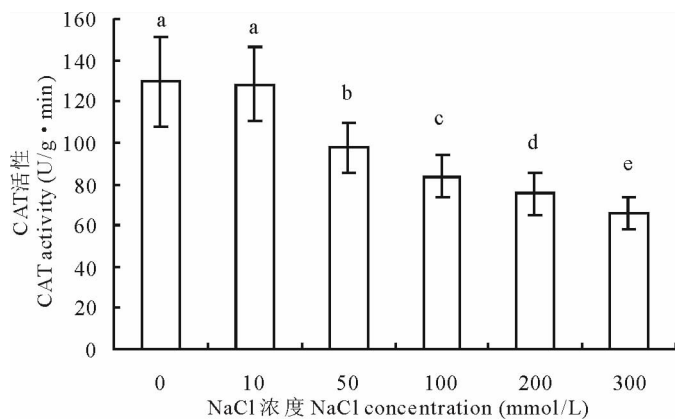


图 7 盐胁迫对金盏菊 CAT 活性的影响

Fig. 7 Effect of salt treatment on CAT activity of *C. officinalis*

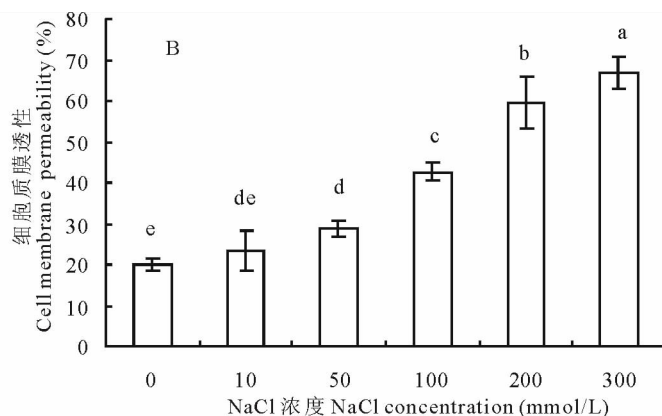
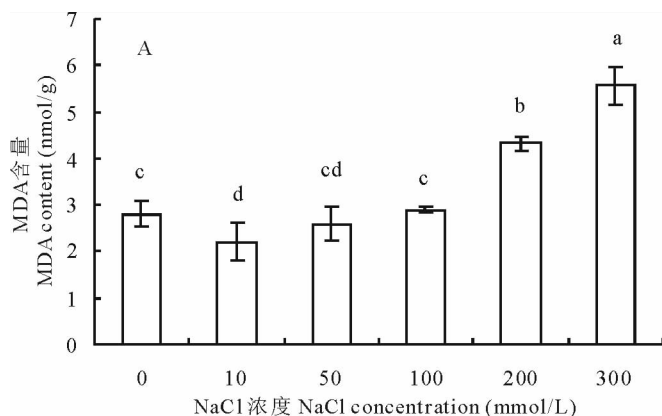


图 8 盐胁迫对金盏菊丙二醛含量(A)和细胞质膜透性(B)的影响

Fig. 8 Effect of salt stress on MDA content and cell membrane permeability of *C. officinalis*

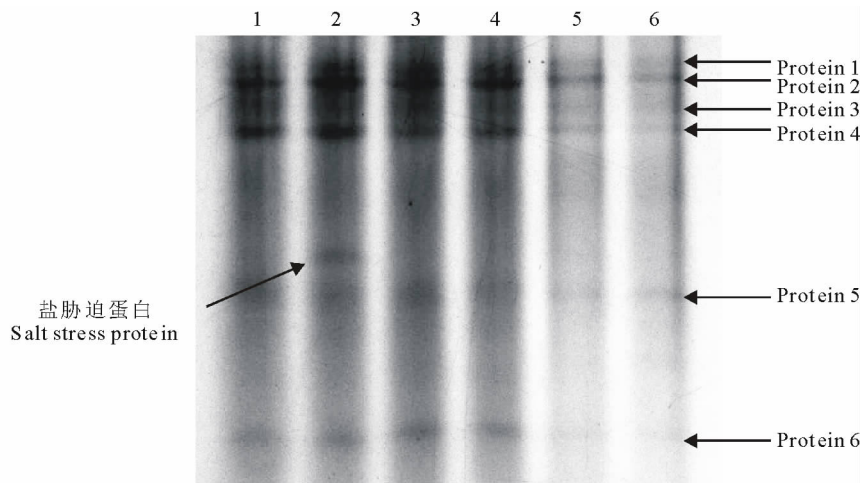


图 9 盐胁迫下金盏菊盐胁迫蛋白的诱导生成

Fig. 9 The induction of salt stress protein of *C. officinalis* under salt stress

SOD 功能是歧化超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)为 O_2 和 H_2O_2 ($2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$), 而 POD 和 CAT 则催化 H_2O_2 形成 H_2O 和 O_2 ^[31]。在正常生理条件下, SOD、POD、CAT 3 种酶的协同作用降低氧自由基的积累及阻遏了 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 (reactive oxygen species, ROS) 通过 Fenton 型 Haber-Weiss 反应向破坏性极强的 $\cdot OH$ 转化, 从而避免或减轻了自由基对生物大分子如核酸、蛋白质(酶)等的降解破坏及对生物膜的损害^[31]。丙二醛是膜脂过氧化作用重要产物之一, 可与蛋白质、核酸、氨基酸等活性物质交联, 形成不溶性的化合物沉积, 干扰细胞正常生命活动, 因而, 它在细胞内的积累一定程度上反映了植物体内自由基活动的动态和细胞的受损程度, 常被作为脂质过氧化指标^[31,32], 表示植物对逆境条件反应强弱。细胞质膜透性也是植物受伤害程度的指标^[20]。在逆境胁迫下, 其细胞质膜透性增大已被前人研究证实^[15]。

本试验表明, 当 NaCl 为 10 mmol/L 时, 金盏菊 SOD、POD 活性高于对照, CAT 活性与对照相比差异不显著, 可能是因为 SOD、POD、CAT 三者能够协调一致, 共同作用, 较好地清除其体内 ROS, 减少了 MDA 积累, 从而促进金盏菊生长。当 NaCl 为 50~100 mmol/L 胁迫时, 金盏菊 SOD、POD 活性增强, CAT 活性呈下降趋势, 表明 SOD 歧化 $O_2^{\cdot-}$ 为 O_2 和 H_2O_2 能力也随着增强, POD 清除 H_2O_2 的能力增强, 而 CAT 清除 H_2O_2 的能力有所下降, 但 SOD、POD、CAT 三者仍能够较好地协调一致, 较好地清除其体内 ROS, 不会引起膜质过氧化作用的加剧, 这可以从 MDA 含量变化得以证实, 而质膜透性的增加, 可能是 NaCl 处理的结果, 因此, 膜稳定性影响较小, 细胞稳态和正常代谢受干扰程度轻, 其生长受抑制较小。与 100 mmol/L NaCl 相比, NaCl 浓度为 200~300 mmol/L 时, SOD、POD、CAT 活性均明显下降, POD 活性虽仍明显高于对照, 但由于组织中高浓度 H_2O_2 主要通过 CAT 清除, 从而使 H_2O_2 控制在较低水平; 而低浓度 H_2O_2 主要靠 POD 在氧化相应基质时被消化^[33], 故此 3 种酶不能协调一致, 其清除活性氧的能力减弱, 加剧 Haber-Weiss 反应, 膜质过氧化程度也加重, 这可从 MDA 含量和质膜透性急剧增加的结果得以证实, 膜稳定性下降, 细胞正常氧化代谢和稳态受干扰, 导致金盏菊生长受抑制加剧。

POD 同工酶普遍存在于植物体各组织中, 是一种对环境条件十分敏感的氧化酶类, 其活性和同工酶谱的变化在一定程度上能反映植物抗盐性的强弱^[34]。本试验中, 一方面, 对照和盐胁迫下金盏菊 POD 同工酶谱均有 POD1~POD6, 表明 POD1~POD6 为组成性表达, 而 POD1~POD6 活性呈先升高后下降趋势, 又说明盐处理后金盏菊这些同工酶基因表达量也呈先升高后下降趋势; 另一方面, 当 NaCl 浓度 ≥ 50 mmol/L 时, POD 同工酶谱出现 2 个新的谱带, 表明这 2 个谱带可能属于诱导性表达。因此, 盐胁迫下, 金盏菊 POD 活性增强是通过组成性表达和诱导性表达 2 种方式来增强酶活性的, 增强清除 H_2O_2 的能力, 适应盐胁迫环境, 且这 2 种方式中以组成性表达为主。

植物受到逆境胁迫时, 其体内会发生一系列生理生化变化, 诱导有关基因表达或相应地关闭某些基因, 导致

在植物组织中的蛋白质发生变化^[35];还有研究认为植物受到盐逆境胁迫时也会合成特异的蛋白质以提高抗性^[23,35]。从本研究结果中,在 NaCl 10 mmol/L 胁迫下,金盏菊的 SDS-PAGE 图谱中增加 1 个蛋白谱带,对照和其他浓度的盐胁迫下,未发现此谱带,表明适宜浓度 NaCl (10 mmol/L) 处理下,诱导盐胁迫基因表达,而此浓度处理又促进金盏菊生长,暗示了这种促进作用与盐胁迫蛋白表达有关。关于此盐胁迫蛋白的分子生物学特性、细胞定位还有待进一步研究。图谱还显示,对照和 10~100 mmol/L NaCl 胁迫,Protein 1~6 表达量变化不明显,200~300 mmol/L NaCl 胁迫,Protein 1~6 表达量变化明显下降,表明高浓度的 NaCl 胁迫,蛋白质表达量下降,可能也是金盏菊生长受抑制的原因。

总之,10 mmol/L NaCl 处理金盏菊植株,叶绿素含量增加,对根系脱氢酶活性几乎无影响,Na⁺、K⁺ 稳态没有受到干扰,抗氧化酶系统清除活性氧能力增强,细胞质膜伤害减少,且盐胁迫蛋白诱导生成,蛋白表达量不受影响或影响较小,对金盏菊的生长有一定的促进作用;随着 NaCl 浓度逐渐增加,叶绿素含量和根系脱氢酶活性逐渐下降,Na⁺、K⁺ 的稳态受干扰程度也逐渐加剧,抗氧化酶系统清除活性氧类能力逐渐减弱,引起活性氧伤害逐步加重,从而导致 MDA 积累逐渐增加,质膜伤害逐渐加剧;同时无盐胁迫蛋白诱导生成,蛋白表达量下降。因此,金盏菊生长受抑制逐渐加重。综合分析表明,金盏菊耐盐阈值为 100 mmol/L。

参考文献:

- [1] Yildirim E, Taylor A G, Spittler T D. Ameliorative effects of biological treatments on growth of squash plants under salt stress[J]. *Scientia Horticulturae*, 2006, 111: 1-6.
- [2] 黄昌勇. 土壤学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 303.
- [3] 李源, 刘贵波, 高洪文, 等. 紫花苜蓿种质耐盐性综合评价及盐胁迫下的生理反应[J]. *草业学报*, 2010, 19(4): 79-86.
- [4] 张永锋, 梁正伟, 隋丽, 等. 盐碱胁迫对苗期紫花苜蓿生理特性的影响[J]. *草业学报*, 2009, 18(4): 230-235.
- [5] 管志勇, 陈发棣, 滕年军, 等. 5 种菊花近缘种属植物的耐盐性比较[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(4): 787-794.
- [6] 管志勇, 陈发棣, 陈素梅, 等. NaCl 胁迫对菊花花序形态及生理指标的影响[J]. *西北植物学报*, 2009, 29(8): 1624-1629.
- [7] 包满珠. 花卉学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 191-192.
- [8] Azzaz N A, Hassan E A, Elemarey F A. Physiological, anatomical, and biochemical studies on pot marigold (*Calendula officinalis* L.) plants[J]. *African Crop Science Conference Proceedings*, 2007, (8): 1727-1738.
- [9] Szakiel A, Anna G, Paulina D, *et al.* Biosynthesis of oleanolic acid and its glycosides in *Calendula officinalis* suspension culture[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2003, 41: 271-275.
- [10] Chandran P K, Kuttan R. Effect of *Calendula officinalis* flower extract on acute phase proteins, antioxidant defense mechanism and granuloma formation during thermal burns[J]. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 2008, 43(2): 58-64.
- [11] 马艳丽. 家庭养花在污染防治中的作用[J]. *长春大学学报*, 2003, 13(6): 27-29, 45.
- [12] Kandeel Y M R. Effect of NPK fertilization treatments and GA₃ on growth, flowering and chemical composition of marigold (*Calendula officinalis* L.) [J]. *Journal of Agricultural Research Tanta University*, 2004, 30(4): 925-943.
- [13] Rahmani N, Daneshian J, Farahani H A. Effects of nitrogen fertilizer and irrigation regimes on seed yield of calendula (*Calendula officinalis* L.) [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development*, 2009, 1(1): 24-28.
- [14] 蒋志平, 鲁剑巍, 李文西, 等. 盆栽金盏菊氮磷钾肥料配方的研究[J]. *园艺学报*, 2007, 35(2): 269-276.
- [15] 谷文众, 刘杨, 谷振军. 干旱胁迫对金盏菊膜脂过氧化及保护酶活性的影响[J]. *经济林研究*, 2009, 27(3): 79-81.
- [16] 刘家女, 周启星, 孙挺. Cd-Pb 复合污染条件下 3 种花卉植物的生长反应及超积累特性研究[J]. *环境科学学报*, 2006, 26(12): 2039-2044.
- [17] 刘俊伟, 胡宏友, 许甘治, 等. 城市生活污水浇灌对金盏菊生长的影响[J]. *亚热带植物科学*, 2005, 34(2): 29-33.
- [18] Pintea A, Bele C, Andrei S, *et al.* HPLC analysis of carotenoids in four varieties of *Calendula officinalis* L. flowers[J]. *Acta Biologica Szegediensis*, 2003, 47(1-4): 37-40.
- [19] Kurkin V A, Sharova O V. Flavonoids from *Calendula officinalis* flowers[J]. *Chemistry of Natural Compounds*, 2007, 43(2): 216-217.
- [20] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术(第二版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 118-119, 134-136, 169-170, 171-173.

- [21] 张志良. 植物生理学实验指导(第三版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 123-124.
- [22] 何忠效, 张树政. 电泳[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [23] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [24] Woolley J T. Sodium and silicon as nutrients for the tomato plant[J]. *Plant Physiology*, 1957, 32: 317-321.
- [25] 王宝增, 刘玉杰. 低浓度 NaCl 对非盐生植物小麦的生理效应[J]. *南京农业大学学报*, 2009, 32(2): 15-19.
- [26] Matoh T, Murata S. Sodium stimulates growth of *Panicum coloratum* through enhanced photosynthesis[J]. *Plant Physiology*, 1990, (92): 1169-1173.
- [27] 章宁, 唐龙飞, 郑德英. 不同盐浓度对红萍生长及若干生理指标的影响[J]. *亚热带植物通讯*, 1994, 23(1): 41-45.
- [28] 张景云, 吴凤芝. 盐胁迫对黄瓜不同耐盐品种叶绿素含量和叶绿体超微结构的影响[J]. *中国蔬菜*, 2009, (10): 13-16.
- [29] Munns R, James R A, Läuchli A. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57: 1025-1043.
- [30] 刘友良, 汪良驹. 植物对盐胁迫的反应和耐盐性[A]. 见: 余叔文, 汤章城. 植物生理与分子生物学(2 版)[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 752-769.
- [31] 王爱国. 植物的氧代谢[A]. 见: 余叔文, 汤章城. 植物生理学与分子生物学(2 版)[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 366-389.
- [32] 张永峰, 殷波. 混合盐碱胁迫对苗期紫花苜蓿抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响[J]. *草业学报*, 2009, 18(1): 46-50.
- [33] 杨淑慎, 高俊凤. 活性氧、自由基与植物的衰老[J]. *西北植物学报*, 2001, 21(2): 215-220.
- [34] 孙静, 张万正, 元伟美, 等. 盐胁迫和 6-BA、Ca(NO₃)₂、SA 对小麦 POD 的影响[J]. *山东农业大学学报(自然科学版)*, 2006, 37(4): 517-520.
- [35] 罗秋香, 管清杰, 金淑梅, 等. 植物耐盐性分子生物学研究进展[J]. *分子植物育种*, 2006, 4(6S): 57-64.

Effects of salt stress on the growth, antioxidant ability and salt stress protein of *Calendula officinalis*

LIU Ai-rong¹, ZHANG Yuan-bing², FANG Yuan-yuan¹, LI Wei¹, CHEN Zhi-yang¹

(1. Life Science College, Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, China;

2. Urban Construction and Environment College, Anhui Science and Technology

University, Fengyang 233100, China)

Abstract: *Calendula officinalis* plants were treated with NaCl at different concentrations (0, 10, 50, 100, 200 and 300 mmol/L), while fresh and dry weights, chlorophyll content, root dehydrogenase activity, Na⁺ and K⁺ content, activity of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT), MDA content, and cell membrane permeability were determined. Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) of POD isoenzyme and SDS-PAGE of salt stress protein were done. Compared with the control, fresh and dry weight, chlorophyll content, SOD and POD activity initially increased but then decreased, while MDA content did the opposite. Na⁺ content and cell membrane permeability increased, while root dehydrogenase activity, K⁺ content and CAT activity decreased. Eight bands were detected through PAGE of POD isoenzyme. Only salt stress protein was induced under 10 mmol/L NaCl stress. Therefore, 10 mmol/L NaCl treatment promoted the growth of *C. officinalis* but the inhibitory effects on *C. officinalis* growth were enhanced as NaCl concentrations increased. The synthesis analysis showed that the salt tolerance threshold of *Calendula officinalis* was 100 mmol/L.

Key words: *Calendula officinalis*; NaCl stress; growth; antioxidant enzyme; membrane stability; salt stress protein