

H₂O₂ 前处理对小麦幼苗抗盐性的影响

王振南¹, 杨惠敏¹, 周瑞莲²

(1. 草地农业生态系统国家重点实验室 兰州大学草地农业科技学院, 甘肃 兰州 730020;

2. 鲁东大学生命科学学院, 山东 烟台 264025)

摘要:小麦(*Triticum aestivum*)抗盐性改善的相关研究为实践中提高小麦的抗盐性和适应性提供了重要的理论基础。以小麦为材料,在 H₂O₂、NaCl 和 H₂O₂ + NaCl 处理下,测定了幼苗的株高和叶片相关生理指标,研究了 H₂O₂ 前处理对小麦幼苗抗盐性的影响。结果表明,在 1.2% NaCl 处理下,小麦幼苗叶片丙二醛含量、膜透性、可溶性糖含量、脯氨酸含量和过氧化物酶活性均增加,但 H₂O₂ 前处理+1.2% NaCl 处理下的小麦幼苗叶片丙二醛含量和相对电导率增加较少而可溶性糖含量和过氧化物酶活性增加较多,株高减少较少。H₂O₂ 前处理可在一定程度上增强小麦幼苗抗盐性,但春小麦和冬小麦的反应有差异。

关键词:小麦; H₂O₂ 前处理; NaCl 胁迫; 渗透调节; 抗氧化作用; 株高

中图分类号: Q945.7; S512.104

文献标识码: A

文章编号: 1001-0629(2012)05-0748-05

* 1

全球约有 9.5 亿 hm² 的盐渍化土地,而中国约有 1 亿 hm²[1]。土壤盐渍化可通过离子失衡和严重的生理干旱而持久地影响作物生长[2-3],给农业生产造成了重大影响。小麦(*Triticum aestivum*)是世界上总产量第二的粮食作物,其产量和品质的稳定是全球“粮食安全”和“食物安全”的重要保证。但是,有很大一部分小麦的种植区分布在盐渍化土壤区,因此,其产量和质量受到土壤盐渍化的极大影响[4],严重威胁到“粮食安全”和“食物安全”。如何保证小麦在盐渍化土壤中的正常生长、维持其产量和质量稳定引起了人们广泛关注,因而小麦抗盐性的相关研究成为热点之一。研究发现,小麦抗盐的主要机制在于:随盐含量的增加,小麦叶片的角质层蜡质含量、肉质化程度、相对含水量和干物质的积累速率都呈增加趋势,从而使叶片具有较高的保水能力[5];同时,清除自由基的相关酶活性增加,使质膜的稳定性增加[5-6];另外,对盐离子的特异性吸收和转移[7],也使小麦具有一定的抗盐性。

小麦抗盐性机制的阐明为在实践中改善小麦抗性提供了理论基础。研究发现,对植物施用外源钙[8]、对小麦幼苗施用外源甜菜碱[9]和水杨酸[10]、对水稻(*Oryza sativa*)施用 H₂O₂ 和 NO^[11] 等都能

在一定程度上增加植物的抗盐性。Fedina 等[12]用 H₂O₂ 处理大麦(*Hordeum vulgare*)幼苗后使其抗盐性增强;de Azevedo Neto 等[13]用 H₂O₂ 前处理玉米(*Zea mays*)后,诱导了玉米适应盐胁迫。这些研究给小麦抗盐性改善的研究提供了思路。本研究用 H₂O₂ 进行前处理,然后观测 NaCl 处理后小麦幼苗的生长和相关生理变化,探讨 H₂O₂ 对小麦幼苗抗盐性的影响。

1 材料与amp;方法

1.1 材料培养与处理 选取籽粒饱满、均匀一致的春小麦烟农 5286 (*T. aestivum* cv. Yannong 5286)和冬小麦永良 12 (*T. aestivum* cv. Yongliang 12)的种子置于培养皿泡种萌发,待大部分种子露白后选取大小一致、饱满且露白的种子置于浸湿的滤纸上,套袋培养。在小麦根扎入滤纸、芽长 4~5 cm 时,将滤纸转移到白瓷盘中撑起的纱网上,加入含 H₂O₂ 或 NaCl 的培养液继续培养。培养和处理在人工气候箱内完成,箱内温度 25 °C/18 °C(日/夜),空气相对湿度 70%,光照强度 22 000 lx。

以不含琼脂的 MS 培养基[12-14]为基础培养液(对照),设 5 种处理:仅添加 5 和 100 μmol · L⁻¹ 的 H₂O₂ (H₅ 和 H₁₀₀),添加 5 和 100 μmol · L⁻¹ 的

收稿日期:2011-11-27 接受日期:2011-12-23
基金项目:973 计划课题(2009CB421303);国家自然科学基金(30972422、31172248);甘肃省自然科学基金(096RJZA057);中央高校基本科研业务费(lzujbky-2010-5)
作者简介:王振南(1988-),男,山东临沂人,在读硕士生,主要从事植物水分适应性机制研究。E-mail:wangzn11@lzu.edu.cn
通信作者:杨惠敏 E-mail:huiyang@lzu.edu.cn

$H_2O_2 + 1.2\%$ NaCl($H_5 + Na$ 和 $H_{100} + Na$),以及仅 1.2% 的 NaCl 添加(Na)。其中, $H_5 + Na$ 和 $H_{100} + Na$ 处理为 H_2O_2 处理 2 d 后,继续以 1.2% NaCl 处理。在处理第 5 天时取样测定。

1.2 指标测定 小麦幼苗株高用直尺法测定,叶片相对电导率(Relative Electrical Conductivity, REC)用煮沸法^[15]测定,叶片丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量用硫代巴比妥酸氧化比色法^[16]测定,叶片脯氨酸(Proline)含量用磺基水杨酸法^[17]测定,叶片可溶性糖(Water Soluble Sugar, WSS)含量用蒽酮法^[18]测定,叶片过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性用愈创木酚法^[19]测定,叶片过氧化氢酶(Catalase, CAT)活性用过氧化氢-碘量法测定^[20],叶片超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)活性用氮蓝四唑光还原法测定^[21]。

1.3 数据统计分析 所有指标测定均重复 3 次,所有数据均用 Microsoft Excel 录入并制图。用 SPSS 11.5 软件进行统计分析,比较处理间差异的显著性。

2 结果与分析

2.1 不同处理对小麦幼苗株高的影响 在 H_2O_2 和 NaCl 处理下,小麦幼苗的生长均受到抑制,但春小麦和冬小麦间存在差异(图 1)。与对照相比,所有处理(除 H_5 外)下的春小麦株高均显著降低,且 1.2% NaCl 处理($H_5 + Na$ 、 $H_{100} + Na$ 和 Na)间株高无显著差异。与对照相比,所有的处理下冬小麦株高均降低,而且 Na 处理最小,高浓度 H_2O_2 处理(H_{100} 和 $H_{100} + Na$)下低于低浓度 H_2O_2 处理(H_5 和 $H_5 + Na$)。

2.2 不同处理对小麦幼苗叶片丙二醛含量和相对电导率的影响 在 NaCl 处理下,小麦幼苗叶片丙二醛含量增加,但有 H_2O_2 前处理的增加程度较小(图 2)。与对照相比,所有处理下叶片丙二醛含量均增加,但 $H_5 + Na$ 和 $H_{100} + Na$ 处理叶片丙二醛含量低于 Na 处理;高浓度 H_2O_2 处理(H_{100} 和 $H_{100} + Na$)叶片丙二醛含量高于低浓度处理(H_5 和 $H_5 + Na$)。对于春小麦而言, $H_{100} + Na$ 与 Na 处理下丙二醛含量相差不大,而对冬小麦而言,Na 处理叶片丙二醛含量高于 H_{100} Na 处理。

在 NaCl 处理下,叶片相对电导率增加,但有 H_2O_2 前处理的增加程度较小(图 2)。与对照相比,

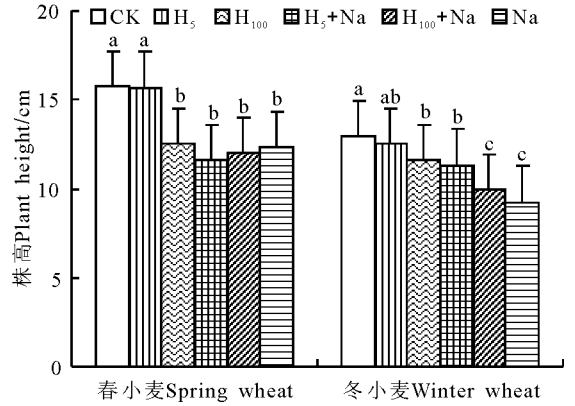


图 1 处理 5 d 时小麦幼苗株高

Fig. 1 Wheat seedlings height after 5-day treatment

注: CK 为对照; H_5 为 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$, H_{100} 为 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$, $H_5 + Na$ 为 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2 + 1.2\%$ NaCl, $H_{100} + Na$ 为 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2 + 1.2\%$ NaCl, Na 为 1.2% NaCl; 不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

Note: CK, Control; H_5 , $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$; H_{100} , $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$; $H_5 + Na$, $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2 + 1.2\%$ NaCl; $H_{100} + Na$, $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2 + 1.2\%$ NaCl; Na, 1.2% NaCl; Different lowercase letters show significant ($P < 0.05$) difference between treatments at 0.05 level. The same below.

所有的处理(除 H_{100} 外)下春小麦叶片相对电导率明显增加; $H_5 + Na$ 和 $H_{100} + Na$ 处理叶片相对电导率低于 Na 处理。 H_2O_2 和 NaCl 处理冬小麦叶片相对电导率变化与春小麦类似,但 H_2O_2 的保护作用更明显:与对照相比,有 H_2O_2 处理(H_5 、 H_{100} 、 $H_5 + Na$ 和 $H_{100} + Na$)的叶片相对电导率变化不大,远低于 Na 处理。

2.3 不同处理对小麦幼苗叶片脯氨酸和可溶性糖含量的影响 H_2O_2 和 NaCl 处理小麦幼苗叶片脯氨酸含量增加,但春小麦和冬小麦间存在差异(图 3)。与对照相比, H_5 和 H_{100} 下春小麦叶片脯氨酸无明显变化,而 $H_5 + Na$ 、 $H_{100} + Na$ 和 Na 处理叶片脯氨酸含量大幅度增加; $H_5 + Na$ 处理叶片脯氨酸含量较 Na 处理高,而 $H_{100} + Na$ 较 Na 处理低。而在冬小麦中, H_2O_2 和 NaCl 处理均导致叶片脯氨酸含量增加,Na 处理最高,而且高浓度 H_2O_2 处理(H_{100} 和 $H_{100} + Na$)处理叶片脯氨酸含量高于低浓度 H_2O_2 处理(H_5 和 $H_5 + Na$)。

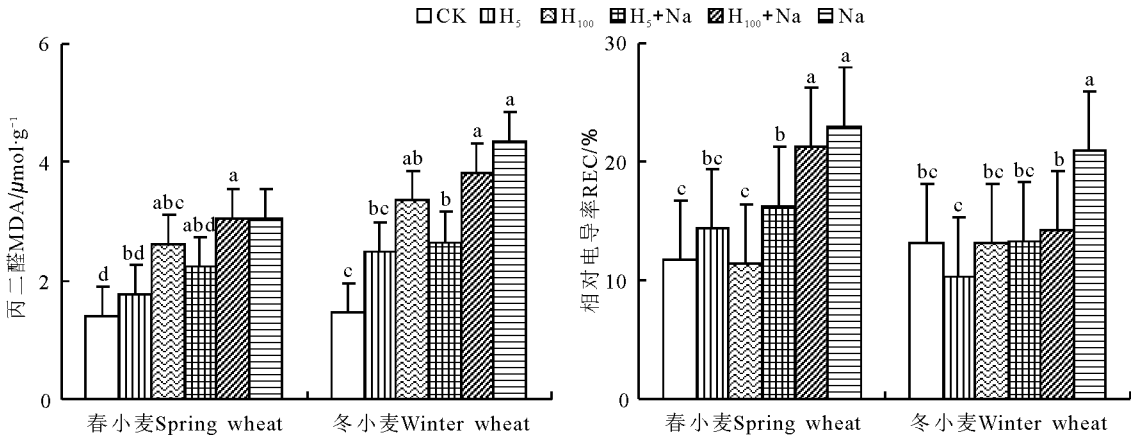


图 2 处理 5 d 时小麦幼苗叶片丙二醛含量和相对电导率

Fig. 2 Leaf malondialdehyde (MDA) content and relative electrical conductivity (REC) of wheat seedlings after 5-day treatment

H_2O_2 和 NaCl 处理叶片可溶性糖含量增加,但春小麦和冬小麦间存在差异(图 3)。与对照相比,所有处理(除 H_5 外)的春小麦叶片可溶性糖含量均增加; $\text{H}_5 + \text{Na}$ 和 $\text{H}_{100} + \text{Na}$ 下叶片可溶性糖含量高于 Na 处理。对于冬小麦而言,所有处理的叶片可溶性糖含量均增加,而且高浓度 H_2O_2 处理(H_{100} 和 $\text{H}_{100} + \text{Na}$)叶片可溶性糖含量高于低浓度 H_2O_2 处理(H_5 和 $\text{H}_5 + \text{Na}$)下, $\text{H}_{100} + \text{Na}$ 处理最高。

2.4 不同处理对小麦幼苗叶片过氧化物酶、过氧化氢酶和超氧化物歧化酶活性的影响

在 H_2O_2 和 NaCl 处理下,小麦幼苗叶片过氧化物酶活性均提高(图 4)。与对照相比,所有的处理下叶片过氧化物酶活性均提高,高浓度 H_2O_2 处理(H_{100} 和 $\text{H}_{100} + \text{Na}$)高于低浓度 H_2O_2 处理(H_5 和 $\text{H}_5 + \text{Na}$),

而且 $\text{H}_{100} + \text{Na}$ 处理最高。但是,各处理下过氧化物酶和超氧化物歧化酶活性变化无明显规律(图 4)。

3 讨论

盐碱地土壤溶液中离子浓度偏高、比例失衡往往造成植物吸水困难、吸收的个别种类离子过多,导致植物体内渗透势变化,不利于植物生理生化过程的正常进行,最终抑制植物的生长^[2,22]。因此,1.2% NaCl 处理下春小麦和冬小麦幼苗的生长受到明显抑制。此外, H_2O_2 处理也对小麦幼苗的生长有抑制作用,尤其高浓度 H_2O_2 处理下抑制作用明显。但重要的是,本研究发现 H_2O_2 前处理能减轻 NaCl 胁迫对小麦幼苗生长的抑制,尤其低浓度 H_2O_2 减轻作用明显。这与 Fedina 等^[12] 和 de Azevedo Neto 等^[13] 的结论一致,适度 H_2O_2 处理能增

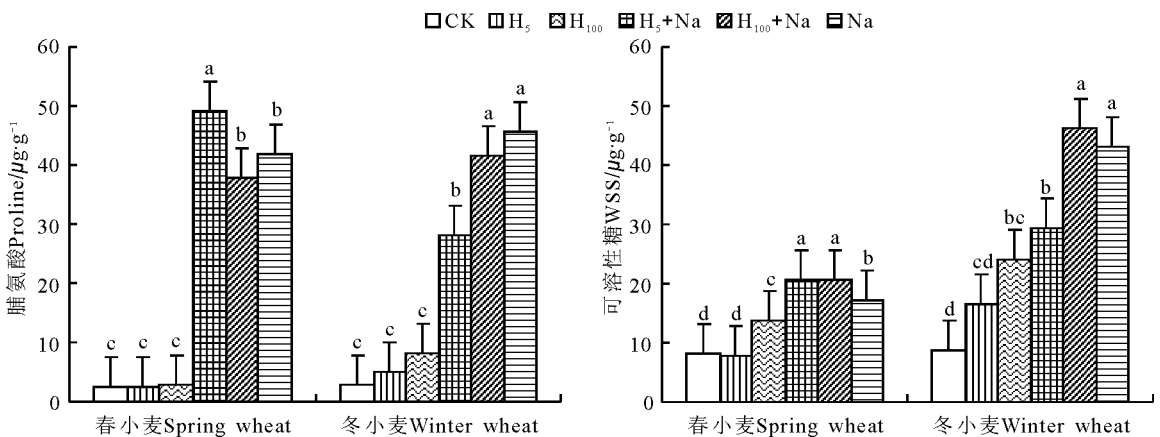


图 3 处理 5 d 时小麦幼苗叶片脯氨酸和可溶性糖含量

Fig. 3 Contents of leaf proline and water soluble sugar (WSS) of wheat seedlings after 5-day treatment

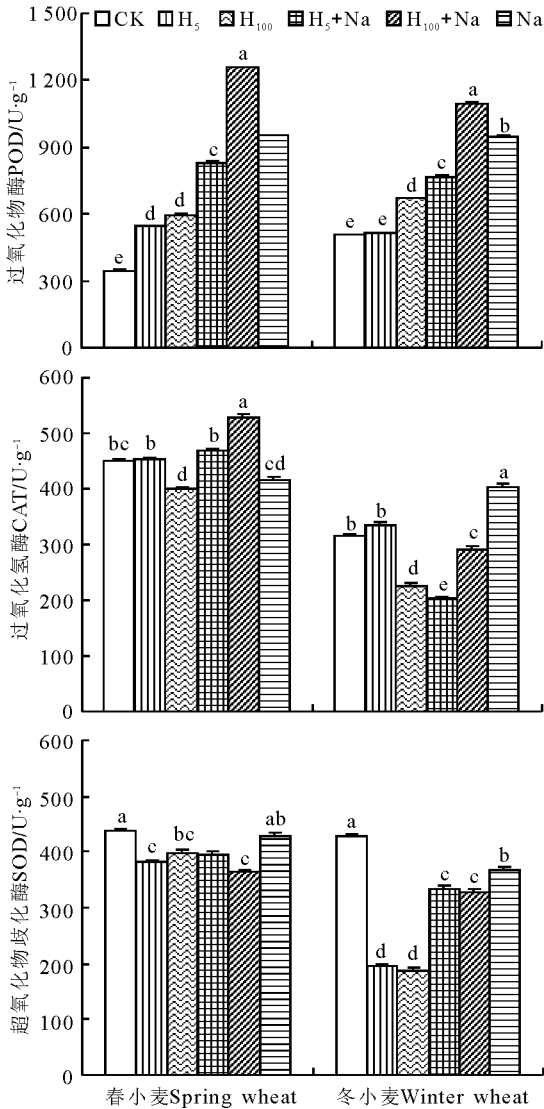


图4 处理5 d时小麦幼苗叶片过氧化物酶、过氧化物歧化酶和超氧化物歧化酶活性

Fig. 4 Activities of leaf peroxidase (POD), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) of wheat seedlings after 5-day treatment

强植物的抗盐性和适应性。

为了抵抗离子失衡和生理干旱造成的伤害,植物通过调整细胞渗透势来维持水分的吸收^[23-25],保证细胞功能的正常发挥。因此,1.2% NaCl处理下的春小麦和冬小麦幼苗叶片脯氨酸和可溶性糖含量增加,有利于细胞渗透势的维持。本研究还发现,H₂O₂前处理可以提高NaCl胁迫下小麦幼苗的渗透调节能力,尤其高浓度H₂O₂前处理能明显提高叶片可溶性糖含量。此外,为了发挥正常的细胞功能,细胞膜结构完整性的维持也必不可少,因此,在

干旱和盐胁迫下,虽然细胞膜脂过氧化加剧^[26],但抗氧化酶等活性的增加及其协同作用能有效减轻胁迫的伤害^[27-28]。本研究发现,1.2% NaCl处理导致小麦幼苗叶片丙二醛含量和相对电导率增加,表明小麦受到胁迫后,细胞膜破坏增加,细胞内容物渗漏增多。虽然H₂O₂处理下叶片丙二醛含量和相对电导率也增加,但作为前处理,能减轻NaCl胁迫对细胞膜的破坏。本研究还发现,1.2% NaCl胁迫下叶片过氧化物酶活性增加,且高浓度H₂O₂前处理下增加幅度更大,提高了细胞抗氧化能力。

许多研究表明,H₂O₂前处理可提高不同植物的抗旱性^[14]、抗冷性^[29]和抗盐性^[12]等。本研究中,H₂O₂前处理后小麦幼苗的抗盐性有一定的改善,这为实践中改善小麦抗盐性、增强其在盐碱地的适应能力提供了一定的理论基础。另外,H₂O₂前处理后春小麦和冬小麦幼苗对NaCl胁迫的响应和表现不同,可能与不同小麦品种的耐盐性^[30]及其对H₂O₂的敏感性不同有关,相关机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] 赵可夫,范海,王宝增,等.改良和利用盐渍化土壤的研究进展[J].园林科技信息,2004(1):32-35.
- [2] Mondal M K, Bhuiyan S I, Franco D T. Soil salinity reduction and prediction of salt dynamics in the coastal rice lands of Bangladesh[J]. Agricultural Water Management, 2001, 47(1):9-23.
- [3] 魏云杰,许模.新疆土壤盐渍化成因及其防治对策研究[J].地球与环境,2005,33(增刊):593-597.
- [4] Abdul-Halim B K, Salih H M, Ahmed A A, et al. Growth and development of maxipak wheat as affected by soil salinity and moisture levels[J]. Plant and Soil, 1988, 112(2):255-259.
- [5] 杨劲松,陈德明,沈其荣.作物抗盐机制研究I.小麦水分保持与质膜渗透性[J].土壤学报,2002,39(4):524-528.
- [6] 王宝山,赵可夫,邹琦.作物耐盐机理研究进展及提高作物抗盐性的对策[J].植物学通报,1997,14(增刊):25-30.
- [7] 杨劲松,陈德明,沈其荣.作物抗盐机制研究II.小麦对盐分离子的吸收与运移[J].土壤学报,2002,39(5):759-762.
- [8] 戴高兴,彭克勤,皮灿辉.钙对植物耐盐性的影响[J].中国农学通报,2003,19(3):97-101.
- [9] 郭启芳,马千全,孙灿,等.外源甜菜碱提高小麦幼苗抗盐性的研究[J].西北植物学报,2004,24(9):1680-1686.
- [10] 张士功,高吉寅,宋景芝.水杨酸对小麦高盐毒害的缓

- 解作用[J]. 应用与环境生物学报, 1999, 5(3): 264-267.
- [11] Uchida A, Jagendorf A T, Hibino T, *et al.* Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice[J]. *Plant Science*, 2002, 163(3): 515-523.
- [12] Fedina I S, Nedeva D, Cicek N. Pre-treatment with H₂O₂ induces salt tolerance in barley seedlings[J]. *Biologia Plantarum*, 2009, 53(2): 321-324.
- [13] de Azevedo Neto A D, Prisco J T, Enéas-Filho J, *et al.* Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt-stress acclimation in maize plants[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2005, 162(10): 1114-1122.
- [14] 邱宗波, 孙立, 李金亭, 等. 外源过氧化氢对小麦水分胁迫伤害的防护作用研究[J]. *植物研究*, 2010, 30(3): 294-298.
- [15] 萧浪涛, 王三根. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 172-174.
- [16] 赵黎芳, 张金政, 张启翔. 盐和水预处理对扶藤幼苗抗寒性的影响[J]. *植物研究*, 2004, 24(3): 313-316.
- [17] 张殿忠, 王沛红, 赵慧贤. 测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法[J]. *植物生理学通讯*, 1990, 26(4): 62-65.
- [18] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 258-260.
- [19] 张玉荣, 刘通, 周显青. 影响愈创木酚法测定玉米过氧化物酶活力的因素[J]. *粮油加工*, 2008(3): 94-97.
- [20] 周丹丹, 吴文卫, 杨逢乐, 等. 两种过氧化氢酶活性测定方法的比较[J]. *江西农业学报*, 2009, 21(1): 118-120.
- [21] 邵从本, 罗广华, 王爱国, 等. 几种检测超氧化物歧化酶活性反应的比较[J]. *植物生理学通讯*, 1983(5): 46-49.
- [22] 高永生, 王锁民, 张承烈. 植物盐适应性调节机制的研究进展[J]. *草业学报*, 2003, 12(2): 1-6.
- [23] 景欣, 张旸, 李玉花. 植物耐盐研究进展[J]. *生物技术通讯*, 2010, 21(2): 290-294.
- [24] 孙永林. 盐胁迫对白菜幼苗逆境指标及蛋白激酶活性的影响[J]. *襄樊学院学报*, 2005, 26(2): 52-54.
- [25] 刘国花. 植物抗盐机理研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2006, 34(23): 6111-6112.
- [26] 潘瑞焱, 王小菁, 李娘辉, 等. 植物生理学[M]. 第六版. 北京: 高等教育出版社, 2008: 284-285.
- [27] 师爱华. Na₂SO₄ 盐胁迫对紫穗槐酶活性的影响[J]. *山西林业科技*, 2009, 38(2): 16-21.
- [28] 廖岩, 彭友贵, 陈桂珠. 植物耐盐性机理研究进展[J]. *生态学报*, 2007, 27(5): 2077-2089.
- [29] 郁继华, 吕军芬, 舒英杰. 外源 H₂O₂ 对西瓜幼苗抗冷性的影响[J]. *中国蔬菜*, 2004(5): 24-25.
- [30] 李树华, 许兴, 惠红霞, 等. 不同小麦品种(系)对盐碱胁迫的生理及农艺性状反应[J]. *麦类作物学报*, 2000, 20(4): 63-67.

Effect of H₂O₂ pre-treatment on salt tolerance of wheat seedlings

WANG Zhen-nan¹, YANG Hui-min¹, ZHOU Rui-lian²

(1. State Key Laboratory of Grassland Agro-ecosystems, College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730020, China;

2. School of Life Science, Ludong University, Yantai 264025, China)

Abstract: The improvement of salt tolerance is of great importance to enhance wheat (*Triticum aestivum*) adaptability to saline and alkalized soils in the practice of wheat cultivation. Under NaCl and H₂O₂ treatments, the plant height of wheat and related physiological parameters were measured to elucidate the effect of H₂O₂ pre-treatment on salt tolerance of wheat seedlings. Leaf malondialdehyde (MDA) content, relative electrical conductivity (REC), water soluble sugar (WSS) content, proline content and peroxidase (POD) activity increased with 1.2% NaCl treatment. However, under H₂O₂ + 1.2% NaCl treatment, there was less increment in MDA and REC contents, more increment in WSS content and POD activity, and less decrease in plant height of wheat seedlings compared to those under 1.2% NaCl treatment. It suggested that H₂O₂ pre-treatment could, to some extent, improve salt tolerance of wheat seedlings, but there was difference in the response to such treatments between two wheat cultivars.

Key words: wheat (*Triticum aestivum*); H₂O₂ pre-treatment; NaCl stress; osmotic adjustment; anti-oxidation; plant height