

张亮, 李玉婷, 夏文静, 等. 盐胁迫下异甜菊醇浸种对油菜种子萌发和幼苗生长的影响 [J]. 福建农业学报, 2020, 35 (8): 883–890.
ZHANG L, LI Y T, XIA W J, et al. Effect of Pre-soaking Seeds in Isosteviol Solution on Germination and Seedling Growth of *Brassica napus* under Salt Stress [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 35 (8): 883–890.

盐胁迫下异甜菊醇浸种对油菜种子萌发 和幼苗生长的影响

张亮¹, 李玉婷¹, 夏文静¹, 许晓风^{1,2*}

(1. 南京师范大学泰州学院化学与生物工程学院, 江苏 泰州 225300;

2. 南京师范大学生命科学学院, 江苏 南京 210023)

摘要:【目的】探索异甜菊醇浸种对盐胁迫下油菜种子发芽及幼苗生长的影响。【方法】以秦油2号油菜种子为材料, 在盐胁迫下添加不同浓度的异甜菊醇, 对其进行浸种处理。统计油菜种子的发芽率、发芽指数和活力指数, 测定幼苗苗高、根长、叶绿素含量、根系活力、丙二醛(MDA)含量及抗氧化酶活性等生理指标。【结果】单纯盐胁迫下, 油菜种子的发芽力受到抑制, 种子发芽指标显著减低, NaCl敏感浓度为 $140\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$; $1\times 10^{-8}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 异甜菊醇浸种处理可显著增加盐胁迫下油菜幼苗的根系活力、子叶中叶绿素总量和SOD活性, 分别比CK₂(去离子水浸种、 $140\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl胁迫)增加27.33%、36.94%和83.31%; 显著降低幼苗子叶的MDA的含量, 比CK₂降低32.11%。而 $1\times 10^{-9}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 异甜菊醇浸种处理可显著增加油菜幼苗子叶的POD和CAT活性, 分别比CK₂增加140.80%和47.25%。异甜菊醇浸种还可显著提高油菜种子的发芽率、发芽指数和活力指数, 显著增加幼苗的苗高和根长。【结论】用适宜浓度($1\times 10^{-9}\sim 1\times 10^{-8}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的异甜菊醇浸种可有效增强油菜幼苗的抗盐能力, 缓解盐胁迫对种子发芽和幼苗生长造成的伤害。

关键词: 异甜菊醇; 油菜; 盐胁迫; 种子萌发; 抗氧化酶

中图分类号: Q 945.78

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2020) 08-0883-08

Effect of Pre-soaking Seeds in Isosteviol Solution on Germination and Seedling Growth of *Brassica napus* under Salt Stress

ZHANG Liang¹, LI Yuting¹, XIA Wenjing¹, XU Xiaofeng^{1,2*}

(1. School of Chemistry and Bioengineering, Taizhou College, Nanjing Normal University, Taizhou, Jiangsu 225300, China;

2. College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing, Jiangsu 210023, China)

Abstract: 【Objective】Effects of pre-soaking seeds in isosteviol solution on germination and seedling growth of *Brassica napus* under salt stress were studied. 【Method】Seeds of Qinyou No. 2, a variety of *B. napus*, were pre-soaked in isosteviol solutions of different concentrations to determine the rate, index, and vigor of the seeds, as well as the height, chlorophyll content, root length and activity, malonaldehyde (MDA) content, and antioxidant enzyme activity of the seedlings under salt stress. 【Result】Salt stress inhibited the germination of *B. napus* seeds with a threshold concentration at NaCl $140\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. By pre-soaking the seeds in a $1\times 10^{-8}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ isosteviol solution, the root activity, chlorophyll content, and SOD activity in cotyledons of the seedlings were significantly increased. Compared to CK₂ (seeds pre-soaked in deionized water prior to germination in a NaCl $140\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ medium), the isosteviol treatment increased 27.33% on root activity, 36.94% on chlorophyll content, and 83.31% on SOD activity, while significantly reduced MDA content by 32.11% in the cotyledons. When a $1\times 10^{-9}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ isosteviol solution was used for the pre-soaking, the POD and CAT activities were significantly increased by 140.80% and 47.25%, respectively, over those under CK₂. The pre-soaking treatment also significantly improved the germination rate, index, and vigor of the seeds, and significantly increased the height and root length of the seedlings. 【Conclusion】Pre-soaking the seeds with an isosteviol solution of appropriate concentration (i.e., $1\times 10^{-9}\sim 1\times 10^{-8}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)

收稿日期: 2019-11-08 初稿; 2020-05-05 修改稿

作者简介: 张亮 (1987-), 男, 硕士, 讲师, 研究方向: 植物逆境生理与植物营养 (E-mail: liangzai0061@126.com)

* 通信作者: 许晓风 (1959-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 植物生理与分子生物学 (E-mail: xuxiaofeng@njnu.edu.cn)

基金项目: 江苏省高等学校自然科学研究面上项目 (2020); 江苏省高校实验室研究会立项课题 (GS2019YB06)

enhanced the salt resistance of *B. napus* reducing the adverse effects on the seed germination and seedling growth caused by the salt stress.

Key words: isosteviol; *Brassica napus*; salt stress; seed germination; antioxidative enzymes

0 引言

【研究意义】土壤盐渍化是影响作物生长发育的非生物逆境之一,严重制约了农产品产量和品质的提升。据统计,全球盐渍化土地面积已超过 10 亿 hm^2 ,由于不合理灌溉等原因,全球盐渍化土地面积还在逐年增加;土壤盐渍化不仅影响植物种子的发芽能力,而且还会影响到植物的产量和品质^[1-2]。高盐环境中,植物细胞内积累大量的 Na^+ ,高浓度的 Na^+ 会对机体产生盐毒害和渗透伤害双重效应,进而影响抗氧化酶的活性,导致活性氧(reactive oxygen species, ROS)代谢失衡,而植物体内大量积累的 ROS,可氧化攻击细胞膜系统,引起质膜局部损伤和非选择透性增加,细胞内容物大量外渗,植物生长受到阻碍,严重时影响植物的生存^[3]。因此,通过施入外源物质等措施来缓解土壤盐渍化造成的危害,增强植物的抗盐能力,将有利于提高作物的产量和品质,减少盐胁迫给农作物带来的经济损失。

【前人研究进展】植物种子发芽和幼苗生长期间对外界环境非常敏感,极易受到 Na^+ 的毒害^[4]。近年来,许多植物生长调节物质在植物的抗盐胁迫中发挥至关重要的作用,研究表明,赤霉素对较高浓度盐胁迫下的红砂种子发芽率降低有显著的改善作用,同时可以提高种子的发芽速度和发芽指数^[5];用外源水杨酸浸种,可以提高萝卜幼苗在盐胁迫下叶片的叶绿素含量,促进光合作用,提高植物的抗氧化酶活性,降低膜脂过氧化程度,调控 Na^+ 离子吸收与分布,以缓解离子毒害^[6];施加 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 精胺到小麦培养液中,可显著提高小麦幼苗叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)的活性,降低叶片MDA含量,有效缓解小麦幼苗受到盐胁迫的伤害^[7]。此外,如 6-苜基腺嘌呤、抗坏血酸、一氧化氮、硒元素等在植物受到盐胁迫时,也能发挥较好的缓解作用^[8]。目前,在这些植物生长调节剂的研究领域中,赤霉素类的应用研究最为活跃^[9]。异甜菊醇(isosteviol),又称异斯特维醇,是一种具有贝叶烷骨架的四环二萜类化合物,由 Mosetling 和 Nes 在 1955 年首次报道^[10-11]。异甜菊醇由甜菊苷(stevioside)通过酸水解,或由甜菊醇(steviol)在酸性条件下官能团重排制备获得;而甜菊醇由甜菊苷经高碘酸钠氧化水解得到^[12-13]。异

甜菊醇和赤霉素均由乙酸板块通过甲瓦龙酸、贝壳杉烯酸等中间体次生代谢而来,在母体结构上两者表现出相似性。刘秀芳等^[14]指出,异甜菊醇和甜菊醇在促进水稻种子发芽方面,活性优于赤霉素。【本研究切入点】关于异甜菊醇缓解植物盐毒害方面的研究几乎是空白。【拟解决的关键问题】秦油 2 号属甘蓝型冬油菜冬性“三系”杂交油菜品种,具有早熟、适应性广、抗逆性强的特点。通过用异甜菊醇浸种,研究盐胁迫下秦油 2 号种子发芽情况及幼苗生理指标的变化,探讨异甜菊醇对盐胁迫抑制油菜幼苗生长的缓解效应。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验材料为甘蓝型油菜秦油 2 号的种子,购于河南省博韬种业有限公司。异甜菊醇由东南大学医学院许德义教授提供,纯度为 99%。

1.2 试验设计

1.2.1 盐胁迫处理浓度的筛选 挑选大小均匀、籽粒饱满的油菜种子,控制每 50 粒种子质量在 $0.15 \sim 0.20 \text{ g}$,用 $1:500 (m:m)$ 的高锰酸钾溶液浸泡消毒 30 min,消毒后用无菌水冲洗 3~4 次后吸干水分。用 37°C 的温水浸种 24 h 后,将种子置于垫有双层滤纸的培养皿(直径 15 cm)中,每皿 50 粒,然后分别加入 20 mL 浓度为 40、80、100、120、140、160 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaCl 溶液,以等量去离子水浸种和发苗为对照 1 (CK_1),每个处理设置 5 次重复,置于光照培养箱内培养,温度 25°C ,光照时间 12 h。每天记录种子的发芽情况,以胚根长度 2~3 mm 为发芽标准,连续 3 d 无种子发芽即为发芽结束。培养 7 d 后,统计发芽率、发芽指数和活力指数,测量幼苗苗高和根长^[15]。

1.2.2 异甜菊醇浸种和盐胁迫处理 依据盐胁迫处理浓度试验的结果,确定使用 $140 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 溶液作为盐胁迫处理。按照上述消毒方法进行种子消毒。先用浓度梯度为 1×10^{-10} 、 1×10^{-9} 、 1×10^{-8} 、 1×10^{-7} 、 $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的异甜菊醇浸种 24 h,以去离子水浸种为对照 2 (CK_2)。然后置于双层滤纸的培养皿中,每皿 50 粒,分别加入 20 mL 浓度为 $140 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaCl 溶液进行盐胁迫处理,以去离子水浸种和培养发芽作为对照 1 (CK_1),5 次重复,每天更换培

养液。置于光照培养箱内培养，温度 25 ℃，每天光照时间 12 h。每天记录种子的发芽情况，以胚根长度 2~3 mm 为发芽标准，连续 3 d 无种子发芽即为发芽结束。培养 7 d 后，统计发芽率、发芽指数和活力指数，测量幼苗的苗高和根长，取适量子叶和根系测定相关生理生化指标。

1.3 指标测定

取适量幼苗胚根和子叶测定相关指标^[16]。采用 TTC 法测定根系活力（以单位时间、重量的四氮唑还原量来表示， $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ）；采用丙酮提取法测定叶绿素含量；采用硫代巴比妥酸法测定丙二醛含量；采用氯化硝基四氮唑蓝光化学还原反应法测定 SOD 活性；采用愈创木酚法测定 POD 活性；采用紫外分光光度法测定 CAT 活性。

发芽率=（发芽的种子总数/供试种子总数）×100%；发芽指数= $\sum G_t/D_t$ ， D_t 为发芽日数， G_t 为在 t 日的发芽数；活力指数= $GI\times S$ ， GI 为发芽指数， S 为单株幼苗长度（cm）。

1.4 数据处理

试验数据采用 Excel 2010 进行基本计算和绘图，采用 SPSS 19.0 中的 Duncan's 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫下油菜种子发芽和幼苗生长情况

由表 1 可知，在盐胁迫的各处理中，随着 NaCl 浓度升高，油菜种子的发芽率、发芽指数、活力指数，幼苗的苗高和根长均表现出不同程度的降低。其中，当 NaCl 浓度为 40 mmol·L⁻¹ 时，油菜幼苗苗高略有增加，但随着 NaCl 浓度升高，总体趋势表现为下降。当 NaCl 浓度为 120 mmol·L⁻¹ 时，与 CK₁（去

离子水浸种和发苗）相比，油菜种子的发芽率、发芽指数、活力指数、苗高和根长等指标，均存在极显著差异；但是，与 100 mmol·L⁻¹ NaCl 处理相比，在发芽率、苗高和根长等指标上均未达到极显著差异（ $P<0.01$ ）。当 NaCl 浓度为 140 mmol·L⁻¹ 时，与 CK₁ 相比，油菜种子的发芽率、发芽指数和活力指数分别下降 20.86%、39.30% 和 78.39%，幼苗的苗高和根长分别下降 47.06% 和 70.41%，差异均达极显著水平（ $P<0.01$ ）。当 NaCl 浓度为 160 mmol·L⁻¹ 时，与 CK₁ 相比，油菜种子的发芽率、发芽指数和活力指数分别下降 46.77%、71.95% 和 94.47%，幼苗的苗高和根长分别下降 64.71% 和 85.71%，除发芽率以外，其余指标的下降率均超过了 50%，各项指标的差异均达极显著水平（ $P<0.01$ ）。表明 NaCl 浓度高于 140 mmol·L⁻¹ 会严重影响油菜种子的发芽和成苗过程。因此，选择 NaCl 浓度 140 mmol·L⁻¹ 作为感受盐胁迫的敏感浓度，进行后续的试验。

2.2 NaCl 胁迫下异甜菊醇浸种对油菜种子发芽及幼苗生长的影响

由表 2 可知，与 CK₁ 相比，CK₂（去离子水浸种、140 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫）的油菜种子发芽率、发芽指数、活力指数、苗高和根长均显著降低，分别降低 19.24%、31.97%、75.59%、51.43% 和 68.75%。

与 CK₂ 相比，不同浓度的异甜菊醇浸种处理，各项指标均表现出不同程度的升高，但均显著低于无 NaCl 胁迫的 CK₁。其中， 1×10^{-9} mol·L⁻¹ 异甜菊醇浸种处理的发芽率比 CK₂ 提高 14.08%； 1×10^{-8} mol·L⁻¹ 异甜菊醇浸种处理的发芽指数、活力指数、苗高和根长分别比 CK₂ 提高 33.02%、146.24%、70.59%

表 1 NaCl 胁迫对油菜种子发芽指标的影响
Table 1 Effect of salt stress on seed germination of *B. napus*

NaCl 浓度 NaCl concentration/ (mmol·L ⁻¹)	发芽率 Germination rate/%	发芽指数 Germination index	活力指数 Vitality index	苗高 Stem length/cm	根长 Root length/cm
0 (CK ₁)	93.00±1.51 Aa	43.71±0.92 Aa	576.97±5.80 Aa	3.40±0.28 Aa	9.80±1.41 Aa
40	91.30±2.62 Aab	41.02±1.41 Aab	500.44±3.30 Bb	3.50±0.32 Aa	8.70±1.12 Bb
80	90.70±1.71 ABb	37.61±1.31 Bb	304.64±4.60 Cc	2.70±0.56 Bb	5.40±0.71 Cc
100	90.20±1.12 ABb	36.82±1.72 Bbc	217.24±2.30 Dd	2.30±0.73 Cbc	3.60±0.42 Dd
120	85.10±0.91 Bc	32.41±1.91 Cc	184.74±1.91 Ee	2.20±1.11 Cc	3.50±0.41 Dd
140	73.60±1.61 Cd	26.53±0.72 Dd	124.69±1.80 Ff	1.80±0.82 Dd	2.90±0.11 Ee
160	49.50±1.72 De	12.26±0.41 Ee	31.88±2.30 Gg	1.20±1.38 Ee	1.40±0.11 Ff

注：同一列无相同大写字母表示处理间差异极显著（ $P<0.01$ ）；同一列无相同小写字母表示处理间差异显著（ $P<0.05$ ）；CK₁为去离子水浸种和发芽处理组。

Note: Data with different capitalized letters on same column indicate significant difference between treatments at $P<0.01$; those with same lowercase letters on same column indicate significant difference between treatments at $P<0.05$; CK₁ indicates control group by soaking and germinating seeds in deionized water.

表 2 NaCl 胁迫下异甜菊醇浸种对油菜种子发芽及幼苗生长的影响
Table 2 Effects of pre-soaking in isosteviol solution on seed germination and seedling growth of *B. napus* under salt stress

异甜菊醇浓度Isosteviol concentration/ (mol·L ⁻¹)	发芽率 Germination rate/%	发芽指数 Germination index	活力指数 Vitality index	苗高 Stem length/cm	根长 Root length/cm
0 (CK ₁)	92.50±1.52 a	42.82±0.90 a	560.94±5.82 a	3.50±0.28 a	9.60±1.40 a
0 (CK ₂)	74.70±2.61 e	29.13±0.81 d	136.91±1.72 f	1.70±0.31 e	3.00±0.10 f
1×10 ⁻¹⁰	79.31±1.42 cd	34.13±1.12 c	211.61±0.92 e	2.20±0.51 d	4.00±0.11 e
1×10 ⁻⁹	85.22±1.20 b	37.04±1.93 b	288.91±1.71 c	2.90±0.20 b	4.90±0.22 c
1×10 ⁻⁸	84.11±2.10 b	38.75±1.01 b	337.13±2.83 b	2.90±0.41 b	5.80±0.23 b
1×10 ⁻⁷	81.63±1.61 c	36.91±1.04 bc	265.75±2.74 cd	2.60±0.51 c	4.60±0.41 cd
1×10 ⁻⁶	77.52±2.02 d	35.92±1.53 c	255.03±1.73 d	2.60±0.42 c	4.50±0.32 d

注：CK₁为去离子水浸种、发苗处理组；CK₂为去离子水浸种、140 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫发苗处理组，下同。
Note: CK₁ indicates control group by soaking and germinating seeds in deionized water. CK₂ indicates control group by pre-soaking seeds in deionized water and germinating in medium containing NaCl 140 mmol·L⁻¹. Same for the following unless stated otherwise.

和 93.33%。表明用异甜菊醇浸种，可缓解盐胁迫对油菜种子萌发和幼苗前期生长产生的抑制作用。

2.3 NaCl 胁迫下异甜菊醇浸种对油菜幼苗生理指标的影响

2.3.1 根系活力 由图 1 可知，与 CK₁ 相比，CK₂ 的油菜幼苗根系活力显著降低 25.05%。与 CK₂ 相比，不同浓度的异甜菊醇浸种处理，均显著提高了幼苗根系活力，其中 1×10⁻⁸ mol·L⁻¹ 异甜菊醇浸种处理的根系活力增加 27.33%。表明盐胁迫下，用异甜菊醇浸种可提高油菜幼苗根系活力。

2.3.2 叶绿素含量 由图 2 可知，与 CK₁ 相比，CK₂ 的油菜幼苗子叶中叶绿素的合成受到显著抑制，比 CK₁ 降低 37.99%。与 CK₂ 相比，不同浓度的异甜菊醇浸种处理，均显著提高了子叶中叶绿素含量，其中 1×10⁻⁸ mol·L⁻¹ 异甜菊醇浸种处理的叶绿素

含量提高 36.94%。表明在盐胁迫下，用异甜菊醇浸种有利于油菜幼苗光合色素的合成。

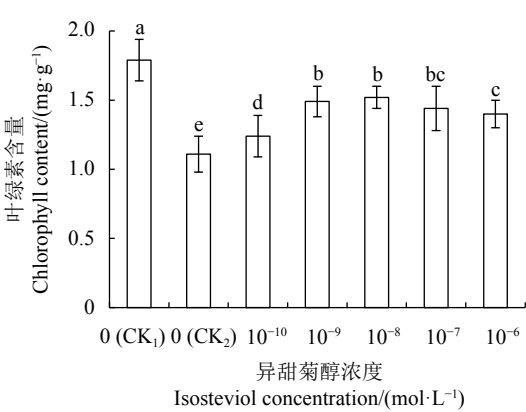


图 2 NaCl 胁迫下异甜菊醇浸种对油菜幼苗（鲜样）叶绿素含量的影响

Fig. 2 Effect of pre-soaking seeds in isosteviol solution on chlorophyll content of *B. napus* seedlings (fresh samples) under salt stress

2.3.3 MDA 含量 由图 3 可知，与 CK₁ 相比，CK₂ 的油菜幼苗子叶中 MDA 含量显著升高 65.98%。与 CK₂ 相比，不同浓度的异甜菊醇浸种处理，均显著降低子叶中 MDA 含量，其中 1×10⁻⁸ mol·L⁻¹ 异甜菊醇浸种处理的 MDA 含量降低 32.11%。表明在盐胁迫下，用异甜菊醇浸种可降低油菜幼苗子叶中 MDA 的含量，具有缓解活性氧对细胞造成的氧化损伤作用。

2.3.4 抗氧化酶活性 由图 4 可知，与 CK₁ 相比，CK₂ 的油菜幼苗子叶中 SOD、POD 和 CAT 活性均略有增加，但未达到显著水平。与 CK₂ 相比，不同浓度的异甜菊醇浸种处理，均显著提高了油菜幼苗子叶的 SOD、POD 和 CAT 活性，其中：1×10⁻⁹ mol·L⁻¹ 异甜菊醇浸种处理，幼苗子叶的 POD 和 CAT 活性最高，分别比 CK₂ 增加 140.80% 和 47.25%；1×10⁻⁸ mol·L⁻¹

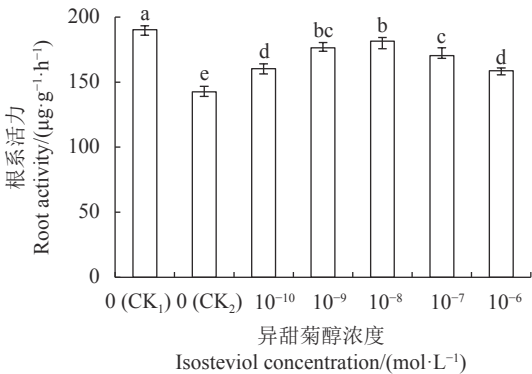


图 1 NaCl 胁迫下异甜菊醇浸种对油菜根系活力的影响
Fig. 1 Effect of pre-soaking seeds in isosteviol solution on root activity of *B. napus* seedlings under salt stress

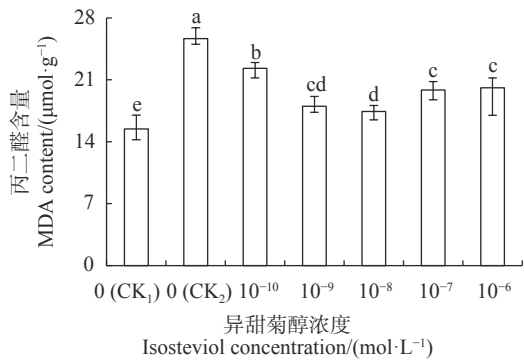


图 3 NaCl 胁迫下异甜菊醇浸种对油菜幼苗子叶（鲜样）丙二醛含量的影响

Fig. 3 Effect of pre-soaking seeds in isosteviol solution on MDA content of *B. napus* seedlings (fresh samples) under salt stress

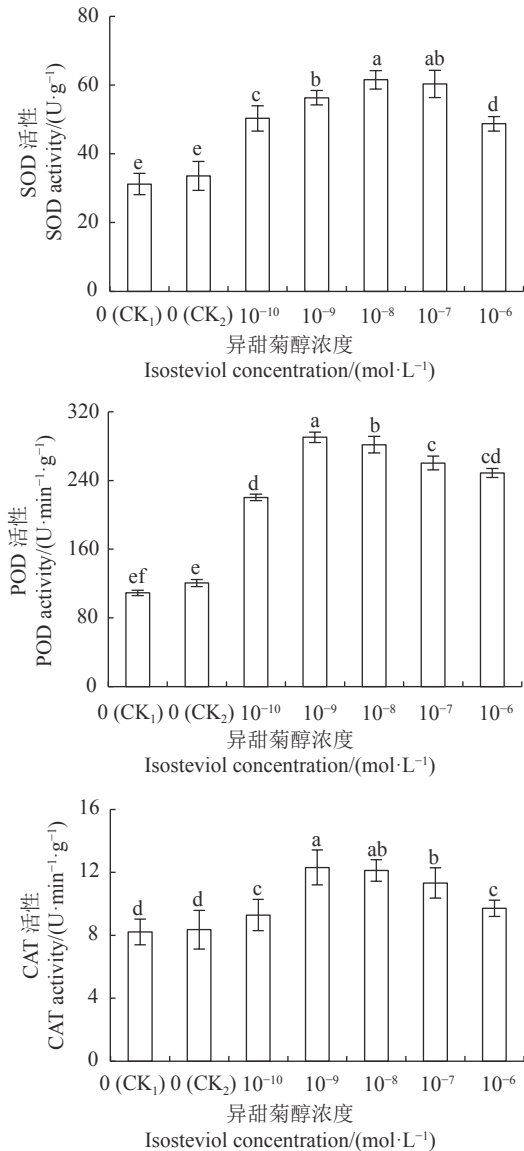


图 4 NaCl 胁迫下异甜菊醇浸种对油菜幼苗子叶（鲜样）抗氧化酶活性的影响

Fig. 4 Effects of pre-soaking seeds in isosteviol solution on SOD, POD, CAT activities of *B. napus* seedlings (fresh samples) under salt stress

异甜菊醇浸种处理，幼苗子叶中 SOD 活性最高，比 CK₂ 增加 83.31%。表明在盐胁迫下，用异甜菊醇浸种可增强油菜幼苗子叶中抗氧化酶的活性。

3 结论与讨论

3.1 异甜菊醇浸种处理有助于盐胁迫下油菜种子的萌发

植物种子在萌发阶段和幼苗生长初期对外界环境的变化最为敏感，是整个生活史中最为关键的阶段。一般认为，植物种子发芽受低浓度的盐处理影响不明显，而较高浓度的盐处理将会抑制植物种子发芽和幼苗生长^[17]。有研究表明，在低浓度的盐处理中对棉花种子发芽有促进作用，而高浓度的盐处理将显著抑制种子的发芽^[18]。另外，有学者发现，当盐浓度为 0.40% 时，对甜高粱种子的发芽率和发芽势无显著影响；当盐浓度高于 0.80% 时开始产生抑制作用^[19]。本研究发现，当 NaCl 浓度为 40 mmol·L⁻¹ 时，油菜幼苗苗高略有增加，种子最终的发芽率和发芽指数与 CK₁ 处理相比无显著变化；随着 NaCl 浓度的升高，种子发芽和幼苗生长情况均受到抑制，当 NaCl 浓度超过 140 mmol·L⁻¹ 时，严重抑制种子萌发和成苗的过程。

有研究发现，赤霉素能促进植物种子在盐胁迫条件下发芽，缓解盐胁迫对幼苗生长产生的毒害作用^[20]。由于异甜菊醇和赤霉素具有母体结构上的相似性，同时也表现出促进种子发芽和幼苗生长的能力^[21]。Nevmerzhitskaya 等^[22] 研究发现，低温和镉胁迫下，用甜菊醇浸种，可以增加冬小麦幼苗的苗高和根长，提高冬小麦的抗逆性，缓解非生物胁迫条件对冬小麦产生的不利影响。本研究结果与之相似。本研究发现，在 NaCl 胁迫条件下，加入 1×10⁻¹⁰~1×10⁻⁶ mol·L⁻¹ 的异甜菊醇浸种处理与对照（CK₂）相比，油菜种子的发芽率、发芽指数、活力指数，幼苗的苗高和根长均显著升高，其中以 1×10⁻⁹~1×10⁻⁸ mol·L⁻¹ 异甜菊醇浸种处理效果最优。表明用适宜浓度的异甜菊醇浸种，能有效缓解盐胁迫对种子发芽和成苗过程产生的伤害。

3.2 异甜菊醇浸种处理有助于提高盐胁迫下油菜幼苗根系活力和叶绿素含量

植物根系作为植物吸收水分和矿物质质元素的重要器官，也是最先感受土壤胁迫环境的部位，根部细胞通过离子平衡、拒盐作用和 Na⁺ 分隔等方式来响应盐胁迫环境^[23]。根系活力主要反映根部氧化、还原、吸收和合成物质的能力，其活力的大小对维持植物地上部的快速生长起到关键作用^[24]。有研究表明，茉莉酸甲酯、氯化钙和脯氨酸能促进盐胁迫

下植物的根系活力,这可能与外源物质参与调解根系细胞渗透压、清除自由基和调控相关酶的活性有关^[25]。本研究发现,与 CK₁ 相比,CK₂ 显著减低油菜幼苗根系活力。而 $1 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 异甜菊醇浸种处理与 CK₂ 相比,根系活力增加 27.33%。表明在盐胁迫下,异甜菊醇浸种可提高油菜幼苗根系活力,有利于根系对水分和矿物质的吸收,提高幼苗的抗盐能力。

在盐胁迫下,由于植物根系活力减弱,吸收不到足够的养分和水分,造成营养不良,致使叶片中叶绿素含量降低^[26]。叶绿素含量的稳定有助于维持植物在逆境中光合作用的正常运转,其含量的多少直接影响植物光合能量的收集、传递和转化的效率,从而影响净光合产物的积累,最终影响植物体的生物量^[27]。有研究表明,盐胁迫下甜高粱幼苗叶片中的叶绿素 a、b 含量均有所下降,当加入硝酸钾后,叶片中光合色素含量显著增加^[28]。另外,有学者发现,赤霉素可提高盐胁迫下水稻叶片叶绿素总量,增强植物的抗逆性^[29]。本研究发现,在盐胁迫下, $1 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 异甜菊醇浸种处理与 CK₂ 相比,叶绿素总含量提高 36.94%。表明异甜菊醇浸种,可缓解盐胁迫对油菜幼苗光合色素合成产生的抑制作用,从而有利于保证幼苗正常进行光合作用。

3.3 异甜菊醇浸种处理能调节盐胁迫下油菜幼苗抗氧化酶系统

植物在正常生理作用下,体内 ROS 的清除与产生处于一种动态平衡。当植物体处于生物或非生物胁迫环境下,这种动态平衡会被打破,体内将会积累过量的 ROS,进而对植物细胞膜系统产生氧化损伤^[30]。MDA 作为膜脂过氧化作用的产物之一,其含量的多少常被用于反映植物细胞的氧化损伤程度^[31]。植物在长期进化的过程中,抗氧化酶系统的形成有助于 ROS 的平衡,其中植物细胞内的 SOD、POD、CAT 等抗氧化酶系统的主要成分在胁迫环境中将会被激活,能有效清除多余的过氧化物、羟基自由基、超氧化物阴离子等活性氧,减少细胞内 MDA 的产生^[32]。有研究表明,在盐胁迫下,水稻幼苗喷施 $25 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 赤霉素后,抗氧化酶活性显著增加,可有效清除过量的 ROS,减少膜脂过氧化作用,显著降低叶片的 MDA 含量,提高水稻的耐盐能力^[33]。Mikhailov 等^[34] 研究发现,在镉和锌的胁迫下,用浓度为 $1 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的甜菊苷浸种,可以提高冬小麦叶片中抗坏血酸过氧化物酶活性,有利于清除体内多余的 ROS,缓解重金属对冬小麦幼苗的毒害。本试验结果显示,在盐胁迫下,用 $1 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的异

甜菊醇浸种,油菜幼苗子叶的 POD 和 CAT 活性最高,分别比 CK₂ 提高 140.80% 和 47.25%;用 $1 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的异甜菊醇浸种,幼苗子叶的 SOD 活性比 CK₂ 提高 83.31%,同时 MDA 含量降低 32.11%。由此表明,盐胁迫下,用适宜浓度的异甜菊醇浸种,能有效调节植物体内抗氧化酶系统,清除多余的 ROS,减少因 ROS 积累对植物细胞造成的伤害,从而提高幼苗的抗盐能力。

综上所述,采用适宜浓度的异甜菊醇浸种,能有效缓解盐胁迫对油菜种子发芽和幼苗生长产生的伤害。其中以 $1 \times 10^{-9} \sim 1 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 异甜菊醇浸种处理,油菜种子的发芽率、发芽指数和活力指数最高,同时能显著提高幼苗根长、苗高、叶绿素含量、抗氧化酶活性和根系活力,降低子叶的 MDA 含量,提高油菜幼苗的抗盐能力。

参考文献:

- [1] KAUSHAL S S. Increased salinization decreases safe drinking water [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50 (6): 2765–2766.
- [2] XU L L, FAN Z Y, DONG Y J, et al. Effects of exogenous salicylic acid and nitric oxide on physiological characteristics of two peanut cultivars under cadmium stress [J]. *Biologia Plantarum*, 2015, 59 (1): 171–182.
- [3] GE H L, ZHANG F L. Growth-promoting ability of *Rhodopseudomonas palustris* G5 and its effect on induced resistance in cucumber against salt stress [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2019, 38 (1): 180–188.
- [4] DENG Y Q, BAO J, YUAN F, et al. Exogenous hydrogen sulfide alleviates salt stress in wheat seedlings by decreasing Na^{++} content [J]. *Plant Growth Regulation*, 2016, 79 (3): 391–399.
- [5] 牛宋芳, 王利娟, 刘秉儒. 赤霉素对盐胁迫下红砂种子萌发的影响 [J]. *草业学报*, 2017, 26 (6): 89–97.
- [6] NIU S F, WANG L J, LIU B R. Effects of gibberellin on the germination of *Reaumuria soongorica* seeds under salt stress [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2017, 26 (6): 89–97. (in Chinese)
- [6] 张会灵, 吴正景, 郭大龙, 等. IAA 和 SA 对盐胁迫下萝卜幼苗生理特性的影响 [J]. *北方园艺*, 2017 (8): 32–34.
- [6] ZHANG H L, WU Z J, GUO D L, et al. Effect of IAA and SA on physiological characteristics of radish seedlings under salt stress [J]. *Northern Horticulture*, 2017 (8): 32–34. (in Chinese)
- [7] 马原松, 辛倩, 朱晓琴, 等. 精胺对盐胁迫下小麦幼苗生理生化指标的影响 [J]. *江苏农业科学*, 2018, 46 (3): 53–56.
- [7] MA Y S, XIN Q, ZHU X Q, et al. Effects of spermine on physiological and biochemical indexes of wheat seedlings under salt stress [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2018, 46 (3): 53–56. (in Chinese)
- [8] 尹相博, 李青, 王绍武. 外源物质缓解盐胁迫下植物幼苗生长的研究

- 进展[J]. 黑龙江农业科学, 2013 (11): 147–150.
- YIN X B, LI Q, WANG S W. Research progress of exogenous substances for alleviate seed germination under salt stress [J]. *Heilongjiang Agricultural Science*, 2013 (11): 147–150. (in Chinese)
- [9] PLAZA-WÜTHRICH S, BLÖSCH R, RINDISBACHER A, et al. Gibberellin deficiency confers both lodging and drought tolerance in small cereals [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 643.
- [10] XU D Y, DU W F, ZHAO L, et al. The neuroprotective effects of isosteviol against focal cerebral ischemia injury induced by middle cerebral artery occlusion in rats [J]. *Planta Medica*, 2008, 74 (8): 816–821.
- [11] 王婷婷, 陈莉. 异甜菊醇衍生物的生物活性及构效关系研究进展[J]. 药学进展, 2013, 37 (4): 152–160.
- WANG T T, CHEN L. Research advances in biological activities and structure-activity relationship of isosteviol derivatives [J]. *Progress in Pharmaceutical Sciences*, 2013, 37 (4): 152–160. (in Chinese)
- [12] WONG K L, LIN J W, LIU J C, et al. Anti proliferative effect of isosteviol on angiotensin- II -treated rat aortic smooth muscle cells [J]. *Pharmacology*, 2006, 76 (4): 163–169.
- [13] JEPPESEN P B, CHEN X, LIU Z, et al. Isosteviol elevates plasma HDL-cholesterol level a potential new drug for the treatment of coronary heart disease [J]. *Diabetologia*, 2009, 52 (1Suppl): 490.
- [14] 刘秀芳, 黄曦. 甜叶醇的结构改造及生物活性试验 [J]. 武汉大学学报(自然科学版), 1994 (2): 74–78, 94.
- LIU X F, HUANG X. Stntheses and physiological testing of new pgrs [J]. *Journal of Wuhan University (Natural Science Edition)*, 1994 (2): 74–78, 94. (in Chinese)
- [15] COCHRANE A. Salt and waterlogging stress impacts on seed germination and early seedling growth of selected endemic plant species from Western Australia [J]. *Plant Ecology*, 2018, 219 (6): 633–647.
- [16] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990.
- [17] 曹丽华, 朱娟娟. 外源硒调控盐胁迫下小白菜种子萌发特性和生理特性研究 [J]. 北方园艺, 2019 (2): 1–7.
- CAO L H, ZHU J J. Effect of selenium on germination rate and physiological property under salt stress in pakchoi [J]. *Northern Horticulture*, 2019 (2): 1–7. (in Chinese)
- [18] 代海芳, 陈彪, 段易伶, 等. 硝普钠和 Zn^{2+} 对盐胁迫下棉花幼苗生长的影响 [J]. 湖北农业科学, 2017, 56 (9): 1620–1622.
- DAI H F, CHEN B, DUAN Y L, et al. Effects of SNP and Zn^{2+} on the growth of cotton seedling under salt stress conditions [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2017, 56 (9): 1620–1622. (in Chinese)
- [19] 王旺田, 谢光辉, 刘文瑜, 等. 外源NO对盐胁迫下甜高粱种子萌发和幼苗生长的影响 [J]. 核农学报, 2019, 33 (2): 0363–0371.
- WANG W T, XIE G H, LIU W Y, et al. Effect of exogenous nitric oxide on seed germination and seedling growth of sorghum under salt stress [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2019, 33 (2): 0363–0371. (in Chinese)
- [20] 敖雁, 宋旭东, 安琳琳, 等. 盐分胁迫及外源GA3调节对甜高粱幼苗生长的影响 [J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2016, 37 (4): 77–83.
- AO Y, SONG X D, AN L L, et al. Effects of salinity and external GA3 regulation on growth of sweet *Sorghum* seedlings [J]. *Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition)*, 2016, 37 (4): 77–83. (in Chinese)
- [21] FRANCK B. Key building blocks of natural product biosynthesis and their significance in chemistry and medicine [J]. *Angewandte Chemie (International Ed. in English)*, 1979, 18 (6): 429–439.
- [22] NEVMERZHITSKAYA Y Y, TIMOFEEVA O A, MIKHAYLOV A L, et al. Stevioside increases the resistance of winter wheat to low temperatures and heavy metals [J]. *Doklady Biological Sciences*, 2013, 452 (1): 287–290.
- [23] 刘自刚, 王志江, 方圆, 等. NaCl胁迫对白菜型冬油菜种子萌发和幼苗生理的影响 [J]. 中国油料作物学报, 2017, 39 (3): 351–359.
- LIU Z G, WANG Z J, FANG Y, et al. Effect of salt stress on seed germination and seedling physiology of winter rapeseed(*Brassica rapa* L.) [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2017, 39 (3): 351–359. (in Chinese)
- [24] 冀保毅, 李杰, 信龙飞, 等. 亚精胺对水分胁迫下稻茬小麦幼苗抗氧化特性及根系活力的影响 [J]. 河南农业科学, 2018, 47 (3): 29–33.
- JI B Y, LI J, XIN L F, et al. Effects of spermidine on antioxidant properties and root activity of rice stubble wheat seedlings under waterlogging stress [J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2018, 47 (3): 29–33. (in Chinese)
- [25] 贺滢, 牛美丽, 党选民, 等. 外源物质对盐胁迫下西瓜种子发芽的影响 [J]. 北方园艺, 2018 (4): 66–71.
- HE H, NIU M L, DANG X M, et al. Effects of exogenous substances on germination of watermelon seeds under salt stress [J]. *Northern Horticulture*, 2018 (4): 66–71. (in Chinese)
- [26] 李彦, 张英鹏, 孙明, 等. 盐分胁迫对植物的影响及植物耐盐机理研究进展 [J]. 中国农学通报, 2008, 24 (1): 258–265.
- LI Y, ZHANG Y P, SUN M, et al. Research advance in the effects of salt stress on plant and the mechanism of plant resistance [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2008, 24 (1): 258–265. (in Chinese)
- [27] GOLAN K, RUBINOWSKA K, KMIĘC K, et al. Impact of scale insect infestation on the content of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence in two host plant species [J]. *Arthropod-Plant Interactions*, 2015, 9 (1): 55–65.
- [28] 孙璐, 周宇飞, 李丰先, 等. 盐胁迫对高粱幼苗光合作用和荧光特性的影响 [J]. 中国农业科学, 2012, 45 (16): 3265–3272.
- SUN L, ZHOU Y F, LI F X, et al. Impacts of salt stress on characteristics of photosynthesis and chlorophyll fluorescence of *Sorghum* seedlings [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45 (16): 3265–3272. (in Chinese)
- [29] 尹昌喜, 汪献芳, 金莉, 等. 赤霉素对盐胁迫下水稻种子发芽及幼苗生长的影响 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37 (14): 6389–6390, 6447.
- YIN C X, WANG X F, JIN L, et al. Effects of GA on seed germination and seedling growth of rice under salt stress [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2009, 37 (14): 6389–6390, 6447. (in Chinese)

- [30] 孙彬, 陈为峰. 赤霉素对盐害下碱茅的萌发和幼苗生长的影响 [J]. 水土保持研究, 2014, 21 (6): 30–34.
- SUN B, CHEN W F. Effect of gibberellin on the seed germination and seedling growth of *Puccinellia distans* under salt-stress [J]. *Research of Soil and Water Conservation*, 2014, 21 (6): 30–34. (in Chinese)
- [31] FAROOQ M A, ALI S, HAMEED A, et al. Cadmium stress in cotton seedlings: Physiological, photosynthesis and oxidative damages alleviated by glycinebetaine [J]. *South African Journal of Botany*, 2016, 104: 61–68.
- [32] BAE J, BENOIT D L, WATSON A K. Effect of heavy metals on seed germination and seedling growth of common ragweed and roadside ground cover legumes [J]. *Environmental Pollution*, 2016, 213 (6): 112–118.
- [33] 张丽丽, 倪善君, 张战, 等. 外源赤霉素对盐胁迫下水稻种子萌发及幼苗生长的缓释效应 [J]. *中国稻米*, 2018, 24 (2): 42–46.
- ZHANG L L, NI S J, ZHANG Z, et al. Sustained release effects of exogenous GA₃ on germination and growth of rice seedling under salt stress [J]. *China Rice*, 2018, 24 (2): 42–46. (in Chinese)
- [34] MIKHAYLOV A L, TIMOFEEVA O A, NEVMERZHITSKAYA Y Y, et al. Molecular heterogeneity of lectins in wheat seedlings under the action of stevioside and heavy metals [J]. *Doklady Biological Sciences*, 2018, 479 (1): 64–66.

(责任编辑: 杨小萍)