

马太光,李海平,郭秀霞,等. 腐殖酸对 NaCl 胁迫下西葫芦胚轴和根生长及抗氧化特性的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(9):189-192. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.09.054

# 腐殖酸对 NaCl 胁迫下西葫芦胚轴和根生长及抗氧化特性的影响

马太光<sup>1</sup>, 李海平<sup>1</sup>, 郭秀霞<sup>1</sup>, 张瑞腾<sup>1</sup>, 李灵芝<sup>1</sup>, 周可杰<sup>2</sup>

(1. 山西农业大学园艺学院,山西太谷 030801; 2. 新沂市苏蒙肥业有限公司,江苏新沂 221400)

**摘要:**以西葫芦 (*Cucurbita pepo*) 农园 1 号种子为材料,研究腐殖酸浸种对 NaCl 胁迫下西葫芦下胚轴和根的生长及抗氧化系统的影响。结果发现,适宜浓度的高活性腐殖酸稀释液浸种能缓解 NaCl 胁迫对西葫芦下胚轴和根的抑制作用,其中以 450 倍的稀释液处理效果最佳。高活性腐殖酸稀释液处理显著提高 NaCl 胁迫下西葫芦种子发芽率、发芽指数、活力指数、鲜质量、根长、下胚轴长、一级侧根数及下胚轴与根中超氧化物酶、过氧化物酶活性,并降低下胚轴与根中丙二醛含量。结果表明,高活性腐殖酸能缓解 NaCl 胁迫对西葫芦下胚轴和根生长的抑制作用,增强西葫芦种子的抗盐性。

**关键词:**腐殖酸;西葫芦 (*Cucurbita pepo*);种子;NaCl;胁迫;抗氧化酶;萌发

**中图分类号:** S642.601 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)09-0189-03

近年来我国设施蔬菜生产发展迅速,设施内长期不合理地施用化学肥料和过量地喷施农药,造成土壤盐渍化程度不断加重,肥力下降,病虫害发生严重,导致蔬菜产量品质逐渐下降,严重制约了设施蔬菜栽培的可持续发展<sup>[1]</sup>。西葫芦为我国主要的设施瓜类蔬菜,而盐害严重影响西葫芦的产量和品质。因此,研究解决设施土壤盐渍化、提高西葫芦抗盐害栽培技术措施已成为普遍关注的生产问题<sup>[2]</sup>。

腐殖酸是自然界中广泛存在的有机高分子物质,它具有活化作用,不仅能增加植物体内氧化酶活性及代谢活动,还能改善土壤结构性性质,最终提高根系吸收水分及养分的能力<sup>[3-5]</sup>。郭伟等研究表明,腐殖酸浸种可有效缓解盐碱胁迫对小麦的影响<sup>[6]</sup>。但目前还没有关于腐殖酸对盐胁迫下西葫芦种子萌发影响的报道,因此本试验通过腐殖酸浸种,在 NaCl 胁迫条件下测定西葫芦种子萌发及根和下胚轴生长的变化,研究腐殖酸浸种对 NaCl 胁迫条件下西葫芦根和下胚轴抗氧化系统的影响,以期揭示西葫芦耐盐胁迫机理和提高西葫芦抗盐胁迫途径提供理论参考,此外也为寻求提高盐碱地区西葫芦的生产提供理论依据和实践指导。

## 1 材料与与方法

### 1.1 试验材料

以西葫芦 (*Cucurbita pepo*) 农园 1 号为试验材料;NaCl 纯度 >99%,由 Life Science Products & Services 公司生产;高活

收稿日期:2016-03-14

基金项目:山西省科技攻关项目(编号:20130311008-4);国家农业科技成果转化资金(编号:2014GB2A300017);山西省农业技术推广示范行动项目(编号:SNKTCG11)。

作者简介:马太光(1991—),男,山西孝义人,硕士研究生,研究方向为蔬菜栽培与生理。E-mail:matg1717@163.com。

通信作者:李海平,硕士,副教授,研究方向为有机蔬菜栽培及蔬菜栽培生理。E-mail:lihp0205@163.com。

性腐殖酸液剂由江苏新沂市苏蒙肥业有限公司提供。

### 1.2 试验设计

试验设置 6 个处理,具体为:(1)不用高活性腐殖酸液剂浸种不加 NaCl,设为 CK;(2)不用高活性腐殖酸液剂浸种加 NaCl,设为 T1;(3)腐殖酸 50 + NaCl(稀释 50 倍高活性腐殖酸液体浸种加 NaCl),设为 T2;(4)腐殖酸 250 + NaCl(稀释 250 倍高活性腐殖酸液体浸种加 NaCl),设为 T3;(5)腐殖酸 450 + NaCl(稀释 450 倍高活性腐殖酸液体浸种加 NaCl),设为 T4;(6)腐殖酸 650 + NaCl(稀释 650 倍高活性腐殖酸液体浸种加 NaCl),设为 T5。

挑选饱满且大小一致的西葫芦种子,用 0.1% 高锰酸钾消毒 15 min,用去离子水反复冲洗干净,吸水纸吸干后分别用高活性腐殖酸溶液(50、250、450、650 倍)和去离子水浸种 8 h [(26 ± 1) °C],然后置于垫入 2 层无菌滤纸培养皿中发芽,每皿 25 粒种子,重复 3 次。每个培养皿加 8 mL 200 mmol/L NaCl 溶液(CK 加入等量去离子水)使滤纸湿润倾斜时皿底无溶液汇聚。将培养皿放入人工气候培养箱内避光培养 [(26 ± 1) °C]。试验过程中隔天轮换添加 1 ~ 2 mL 去离子水和 NaCl 溶液,保持各处理 NaCl 溶液浓度基本维持不变。从第 2 天起统计发芽种子数,以胚根长为种子长度的 1/2 作为萌发标志<sup>[7]</sup>,腐败种子及时挑出,第 7 天停止发芽试验。计算发芽率、发芽指数、活力指数,测定超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性、丙二醛(MDA)含量。

### 1.3 测定项目及方法

发芽率( $GP$ ) = 第 7 天发芽种子数/供试种子数 × 100%;  
发芽指数( $GI$ ) =  $\sum(G_t/D_t)$  ( $G_t$  指时间  $t$  内的发芽数, $D_t$  指对应的发芽天数);

活力指数( $VI$ ) =  $GI \times S$  ( $GI$  为发芽指数, $S$  为第 7 天测定的幼苗鲜质量);

从每个处理随机选取 10 株幼苗,用直尺测量根长、下胚轴长,用分析天平称取幼苗的鲜质量;然后用硫代巴比妥酸

法<sup>[8]</sup>测定西葫芦下胚轴和根内 MDA 的含量,用  $\mu\text{mol/g}$  表示;利用紫外分光光度计进行抗氧化酶活性的测定,用氮蓝四唑(NBT)还原法<sup>[8]</sup>测定 SOD 活性,以  $\text{U}/(\text{g} \cdot \text{min})$  表示;用愈创木酚方法<sup>[8]</sup>测定 POD 活性,以  $\Delta D_{470\text{nm}}/(\text{g} \cdot \text{min})$  表示。

采用 SAS 和 Microsoft Office Excel 2013 软件对试验结果进行方差分析和制图。

## 2 结果与分析

### 2.1 腐殖酸处理对 NaCl 胁迫下西葫芦种子萌发的影响

在 NaCl 胁迫处理下,西葫芦种子发芽率、发芽指数、活力指数、一级侧根数和幼苗鲜质量均显著低于 CK ( $P < 0.05$ ),说明 NaCl 胁迫抑制西葫芦种子的萌发。用 450 倍高活性腐

殖酸稀释液处理,发芽率、发芽指数、活力指数、一级侧根数和幼苗鲜质量均达到最大,与 T1 差异显著;然而用 50 倍高活性腐殖酸稀释液处理却加重抑制(表 1、图 1、图 2)。结果表明,适宜浓度的高活性腐殖酸稀释液处理可以促进 NaCl 胁迫下西葫芦种子的萌发。

### 2.2 腐殖酸处理对 NaCl 胁迫下西葫芦下胚轴和根长的影响

NaCl 胁迫下西葫芦幼苗下胚轴和根长度与 CK 相比显著降低,用适宜浓度高活性腐殖酸稀释液处理后有效缓解了 NaCl 胁迫对西葫芦下胚轴和根生长的抑制。在本试验中,以 450 倍高活性腐殖酸处理效果最好,下胚轴、根长分别比 T1 增加了 1.51、1.85 cm,差异显著(表 1)。

表 1 NaCl 胁迫下腐殖酸处理后西葫芦种子的萌发情况

处理	发芽率 (%)	发芽指数	活力指数	一级侧根数 (条)	鲜质量 (g)	下胚轴长 (cm)	根长 (cm)
CK	94.67a	34.81a	31.80a	9.03a	0.92a	10.59a	11.56a
T1	70.67c	14.41d	3.61d	5.07b	0.25d	1.09cd	3.46c
T2	57.33d	7.61e	1.88e	1.43c	0.25d	0.53d	1.55d
T3	76.00bc	17.61cd	4.66d	2.63c	0.27cd	1.53c	3.04c
T4	86.67ab	22.63b	9.89b	2.77c	0.44b	2.60b	5.31b
T5	77.33bc	19.03bc	6.39c	3.07c	0.34c	1.5c	4.31bc

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

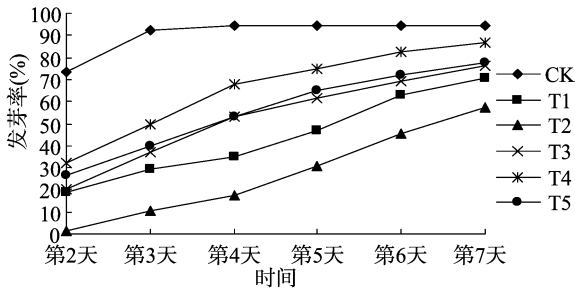


图1 不同浓度高活性腐殖酸对 NaCl 胁迫下西葫芦种子发芽率的影响

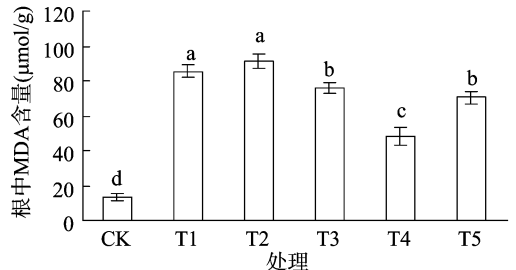


图2 不同浓度高活性腐殖酸对西葫芦种子生长的影响

### 2.3 腐殖酸处理对 NaCl 胁迫下西葫芦下胚轴与根中 MDA 含量的影响

NaCl 胁迫下西葫芦下胚轴与根中的 MDA 含量均比 CK 显著增加,而用高活性腐殖酸稀释液浸种则使其升高幅度降低,并随着高活性腐殖酸稀释倍数的增大其含量呈先下降再升高的趋势,与 T1 处理相比,用 450 倍高活性腐殖酸稀释液处理 MDA 在下胚轴与根中的含量分别降低了 39.10% 和 43.60%,效果最佳(图 3、图 4)。

### 2.4 腐殖酸处理对 NaCl 胁迫下西葫芦下胚轴与根中 SOD 活性的影响



柱上不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。下图同图 3 腐殖酸对 NaCl 胁迫下西葫芦根中 MDA 含量的影响

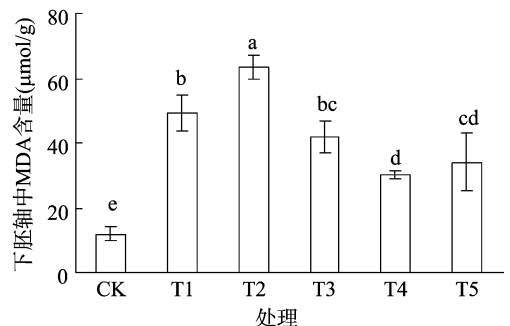


图4 腐殖酸对 NaCl 胁迫下西葫芦下胚轴中 MDA 含量的影响

与 CK 相比,T1 显著抑制了西葫芦下胚轴和根中 SOD 的活性。NaCl 胁迫下,用 450 倍高活性腐殖酸稀释液处理,西葫芦下胚轴、根中 SOD 活性分别比 T1 处理增加了 35.05%、55.30%,效果显著(图 5、图 6)。

### 2.5 腐殖酸处理对 NaCl 胁迫下西葫芦下胚轴与根中 POD 活性的影响

NaCl 处理显著抑制了西葫芦下胚轴和根中 POD 的活性,用 450 倍高活性腐殖酸稀释液处理能够显著降低 NaCl 胁迫对西葫芦下胚轴与根中 POD 保护酶活性的抑制,并且其效果与以上其他指标类似,均以 450 倍缓解效果最好(图 7、图 8)。

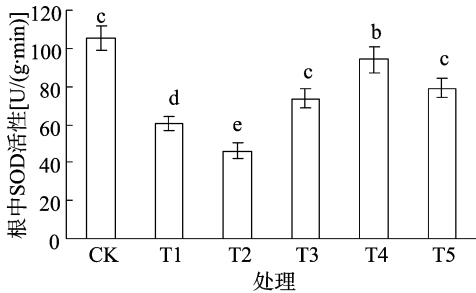


图5 腐殖酸对 NaCl 胁迫下西葫芦根中 SOD 活性的影响

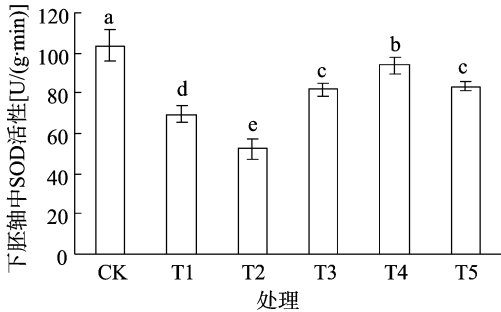


图6 腐殖酸对 NaCl 胁迫下西葫芦下胚轴中 SOD 活性的影响

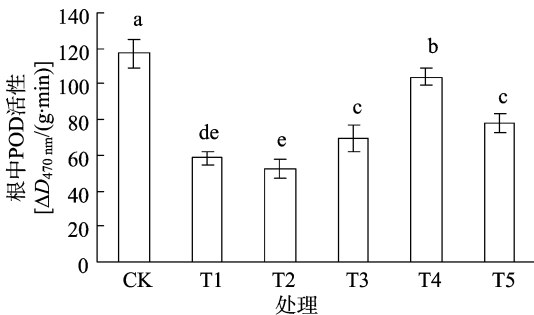


图7 腐殖酸对 NaCl 胁迫下西葫芦根中 POD 活性的影响

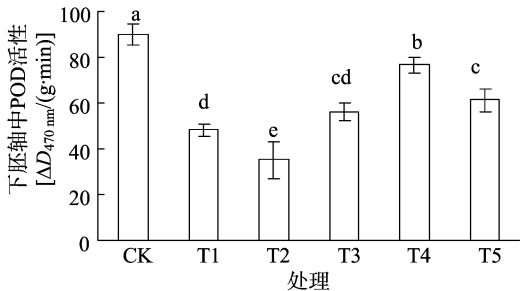


图8 腐殖酸对 NaCl 胁迫下西葫芦下胚轴中 POD 活性的影响

### 3 讨论

种子萌发是作物发育过程中的重要阶段,对作物后期的生长发育和产量有直接的影响。种子萌动时盐胁迫破坏细胞膜的结构和功能,导致种子生理代谢失调,萌发力下降<sup>[9]</sup>。本试验结果表明,200 mmol/L NaCl 处理显著抑制了西葫芦种子的萌发,可能是由于200 mmol/L 处理损坏了细胞质膜的完整性,导致细胞膜选择通透性下降,细胞内外离子不平衡,水势降低,造成种子幼芽吸水困难,影响了种子萌发和幼芽的生长,这与前人的研究结果一致<sup>[10-15]</sup>。孙小芳等也研究表明,种子在萌动是大量吸收 Na<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>,使种子萌发过程中受到渗

透胁迫和离子毒害<sup>[16]</sup>。NaCl 胁迫下腐殖酸浸种处理显著提高了西葫芦种子的发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数,促进西葫芦幼苗根、下胚轴的伸长。研究表明,NaCl 胁迫下施用腐殖酸能够激活小麦种子内 α-淀粉酶活性,提高总可溶性糖、蔗糖和果糖含量,进而提高种子的发芽率<sup>[17-18]</sup>。因此推测腐殖酸浸种促进西葫芦种子萌发可能与西葫芦种子内 α-淀粉酶活性和果糖含量变化有关,具体还需要进一步研究。

在盐胁迫下对植物最显著的变化就是生长受到抑制<sup>[19]</sup>。由于活性氧不易清除,使膜脂发生过氧化,导致膜系统受到伤害。SOD、POD 是植物内源的活性氧清除剂属保护酶系统,逆境中酶活性较高的才能有效地清除活性氧使之保持较低水平,防止膜过氧化,从而减少其对膜结构的破坏,增强植株对逆境的抵抗能力<sup>[20-22]</sup>。本试验中 NaCl 处理显著增加西葫芦下胚轴与根中 MDA 的含量,表明西葫芦幼芽受到氧化胁迫,导致细胞膜受损,这与前人的研究结果<sup>[23-24]</sup>相符。郭伟等研究表明,腐殖酸浸种处理可以增强了小麦幼苗和根系中过氧化物酶和超氧化物歧化酶活性,并促进了谷胱甘肽合成<sup>[6,25]</sup>。本研究结果表明,高活性腐殖酸液剂处理显著降低了 NaCl 诱发的氧化胁迫,其缓解作用与提高抗氧化酶活性有密切的联系,这与郭伟等的研究结果基本相符。

综上所述,用450倍高活性腐殖酸液剂处理可提高 NaCl 胁迫下西葫芦种子的发芽能力,并可提高西葫芦幼苗抗氧化酶活性,降低氧自由基的积累,降低 MDA 含量,使膜脂氧化程度下降,从而提高 NaCl 胁迫下西葫芦幼苗细胞膜选择透性。因此,在盐渍地带可以通过播前对种子用腐殖酸浸种处理,以提高西葫芦的出苗率,增加幼苗的抗盐能力。但此类研究起步较晚,还需要对其影响其他生理代谢机制方面作深入探究。

### 参考文献:

- [1]刘志媛,朱祝军,钱亚榕,等. 等渗 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 和 NaCl 对番茄幼苗生长的影响[J]. 园艺学报,2001,28(1):31-35.
- [2]李海云,王秀峰,邢禹贤. 设施土壤盐分积累及防治措施研究进展[J]. 山东农业大学学报:自然科学版,2001,32(4):535-538.
- [3]牛育华,李仲谨,郝明德,等. 腐殖酸的研究进展[J]. 安徽农业科学,2008,36(11):4638-4639,4651.
- [4]程亮,张保林,王杰,等. 腐殖酸肥料的研究进展[J]. 中国土壤与肥料,2011(5):1-6.
- [5]张敏,胡兆平,李新社,等. 腐殖酸肥料的研究进展及前景展望[J]. 磷肥与复肥,2014,29(1):38-40.
- [6]郭伟,王庆祥. 腐殖酸浸种对盐碱胁迫下小麦根系抗氧化系统的影响[J]. 腐殖酸,2012,29(2):47-47.
- [7]刘卫萍,张志民,王士奎,等. 纤维寡聚酸对番茄种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 北方园艺,2011(1):49-51.
- [8]高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2006:210-217.
- [9]贺军民,余小平,张键. 番茄种子吸湿-回干处理对盐胁迫伤害的缓解效应[J]. 园艺学报,2000,27(2):123-126.
- [10]朱志华,胡荣海,宋景芝,等. 盐胁迫对不同小麦品种种子萌发的影响[J]. 作物品种资源,1996(4):25-29.
- [11]丁顺华,邱念伟,杨洪兵,等. 小麦耐盐性生理指标的选择[J]. 植物生理学通讯,2001,37(2):98-102.

杜碧云,崔慧琳,崔群香,等. 诱导茄子花药通过胚胎发生途径再生植株[J]. 江苏农业科学,2016,44(9):192-195.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.09.055

# 诱导茄子花药通过胚胎发生途径再生植株

杜碧云<sup>1</sup>,崔慧琳<sup>2</sup>,崔群香<sup>1</sup>,周显忠<sup>1</sup>,张天雨<sup>1</sup>,吴飞泽<sup>1</sup>,何成荣<sup>1</sup>

(1. 金陵科技学院,江苏南京 210038;2. 安徽农业大学,安徽合肥 230036)

**摘要:**以9份茄子花药为试材进行诱导培养。结果发现,茄子花药培养能通过胚胎发生途径再生出植株;9份材料均诱导产生了胚状体,但不同材料胚状体诱导频率存在差异,15-黑冠诱导率最高,为17%;91个胚状体中,12个萌发成植株,萌发率为13%;12个植株中,7株移栽成活并现蕾开花,其中5株为单倍体,1株为二倍体,1株为四倍体;虽然2号诱导培养基上花药膨大率高于1号培养基上的花药,但后者随后会产生更多成熟且发育一致的胚胎。结果表明,如何促使胚状体发育成熟、提高单倍体加倍频率、确定胚状体的细胞起源,是制约茄子花药育种实际应用的关键问题。

**关键词:**茄子;花药;胚胎发生;植株再生

**中图分类号:** S641.104+.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)09-0192-04

植物花药和花粉(小孢子)培养是生产单倍体和双单倍体的有效手段,在育种研究中可以大大缩短育种年限。自Guha(1964)和Maheshwar(1982)利用毛叶曼陀罗(*Datura innoxia*)进行花药培养获得胚状体及其再生植株后,至今已有200多种植物通过花药培养获得了再生植株<sup>[1]</sup>。茄子(*Solanum melongena* L.)花药培养的研究开始于20世纪70年代初<sup>[2]</sup>,从那以后从花药和花粉培养均成功获得了单倍体植株<sup>[3]</sup>。茄子花药和花粉培养中,再生植株多数经由愈伤组织通过器官发生途径获得<sup>[4-9]</sup>,少数报道茄子能够通过胚胎萌发产生植株<sup>[10-12]</sup>。研究表明,茄子花药培养能够获得花粉细胞起源的再生植株,再加上茄子花粉培养常需从预培养的花药中游离小孢子培养,整个过程比花药培养技术更加复杂,因

此国内茄子单倍体技术育种研究者以花药培养研究为主。

本研究以金陵科技学院茄子育种课题组所收集的优异茄子花药为材料,开展培养,以期获得花粉起源的植株,建立稳定可靠的茄子花药培养再生体系,为创制茄子遗传育种新种质奠定基础。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

供试材料为金陵科技学院蔬菜育种组收集的茄子8个品种的低世代自交系,1个F<sub>1</sub>代品种聚合杂交的后代,以及田间生长的不知名品种的植株。材料编号分别为14-24、14-25、14-55、14-84、15-231、15-232、15-234、15-黑冠、15-混杂。14-24、14-25、14-55、14-84为2013年底育苗,2014年种植;其余材料为2014年底育苗,2015年种植;所有植株春季栽培结束后,在8月份剪枝再生。定植植株或剪枝再生植株现蕾开花后,选取花瓣距离花萼裂片±2 mm的未开放花蕾进行花药培养试验。

### 1.2 方法

1.2.1 花蕾采集和消毒 采取符合标准的花蕾,在4℃冰箱

收稿日期:2016-03-13

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号: CX(14)2013];金陵科技学院博士资助项目(编号:40610151)。

作者简介:杜碧云(1991—),女,浙江杭州人,硕士研究生,从事蔬菜遗传育种。E-mail:492004647@qq.com。

通信作者:崔群香,博士,教授,主要从事园艺作物遗传育种学的教学和茄子生物技术育种研究。E-mail:cqx@jit.edu.cn。

[12]卢静君,李强,多立安. 盐胁迫对金牌美达丽和猎狗种子萌发的影响[J]. 植物研究,2002,22(3):328-332.

[13]梁云媚,李燕,多立安,等. 不同盐分胁迫对苜蓿种子萌发的影响[J]. 草业科学,1998,15(6):22-26.

[14]安守芹,于卓,孔丽娟,等. 花棒等四种豆科植物种子萌发及苗期耐盐性的研究[J]. 中国草地,1995(6):29-32.

[15]吐尔逊娜依,高辉远,安沙舟,等. 8种牧草耐盐性综合评价[J]. 中国草地,1995(1):30-32,29.

[16]孙小芳,郑青松,刘友良. 盐胁迫下不同基因型棉花萌发生长和离子吸收特性[J]. 棉花学报,2001,13(3):134-137.

[17]王广印,韩世栋,赵一鹏,等. NaCl胁迫及Ca<sup>2+</sup>和GA<sub>3</sub>对南瓜属3种蔬菜种子发芽的影响[J]. 植物资源与环境学报,2005,14(1):26-30.

[18]郭伟,于立河. 腐殖酸浸种对盐胁迫下小麦萌发种子及幼苗生理特性的影响[J]. 麦类作物学报,2012,32(1):90-96.

[19]郭伟,于立河. 腐殖酸浸种对不同耐盐性小麦品种幼苗碳氮代谢的影响[J]. 麦类作物学报,2013,33(2):344-349.

[20]张恩平,张淑红,司龙亭,等. NaCl胁迫对黄瓜幼苗子叶膜脂过氧化物的影响[J]. 沈阳农业大学学报,2001,32(6):446-448.

[21]Scandalios J G. Oxygen stress and superoxide dismutase[J]. Plant Physiology,1993,101(1):7-12.

[22]Foyer C H,Descourvieres P,Kunert K J. Protection against oxygen radicals - an important defense - mechanism studied in transgenic plants[J]. Plant,Cell & Environment,1994,17(5):507-523.

[23]王素平,郭世荣,李璟,等. 盐胁迫对黄瓜幼苗根系生长和水分利用的影响[J]. 应用生态学报,2006,17(10):1883-1888.

[24]韩春梅,李春龙,贺阳冬,等. NaCl胁迫对莴笋种子萌发及幼苗根系生理生化指标的影响[J]. 长江蔬菜,2009(10):21-23.

[25]郭伟,王庆祥. 腐殖酸浸种对盐碱胁迫下小麦幼苗抗氧化系统的影响[J]. 应用生态学报,2011,22(10):2539-2545.