

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201510027

薛晶晶, 朱文丽, 陈松笔. 木薯华南 8 号组培苗对盐胁迫的生理响应[J]. 广西植物, 2016, 36(12):1460-1467

XUE JJ, ZHU WL, CHEN SB. Physiological mechanism of cassava South China 8 tissue culture seedling under salt stress[J]. Guihaia, 2016, 36(12):1460-1467

## 木薯华南 8 号组培苗对盐胁迫的生理响应

薛晶晶, 朱文丽, 陈松笔\*

(中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所/农业部木薯种质资源保护与利用重点实验室, 海南 儋州 571737)

**摘要:** 以 NaCl 胁迫生长的木薯 (*Manihot esculenta*) 华南 8 号(SC8)组培苗为材料, 研究不同浓度(0、5、20、35、50 mmol · L<sup>-1</sup>及 R50 mmol · L<sup>-1</sup>)NaCl 处理对 SC8 组培苗的生长状况及叶绿素、过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)、丙二醛(MDA)含量, 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的影响。结果表明: ≤20 mmol · L<sup>-1</sup>的 NaCl 胁迫 60 d 对 SC8 组培苗的生长基本无影响; ≥35 mmol · L<sup>-1</sup>的 NaCl 胁迫 60 d 抑制了 SC8 组培苗的生长, 但高浓度(50 mmol · L<sup>-1</sup>)胁迫 30 d 后正常培养 30 d, 可以使 SC8 组培苗的长势得到恢复。叶绿素和 MDA 含量在 ≤35 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl 处理下较对照出现积累现象, 随 NaCl 浓度升高(≥50 mmol · L<sup>-1</sup>)含量开始下降; 与对照相比, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量在 NaCl 胁迫下未出现积累现象。NaCl 胁迫下, POD、CAT 和 APX 活性较对照均有所提高; 较高浓度的 NaCl 处理下, SOD、CAT 和 APX 活性开始降低。实时荧光定量 PCR 结果表明, ≥50 mmol · L<sup>-1</sup>NaCl 胁迫下, SOD、CAT、POD 和 APX 的表达水平较对照出现上升现象。这说明短时间的盐胁迫不会对木薯造成致死伤害, 可以通过调节生理指标的活性来提高木薯的耐盐性。

**关键词:** 木薯, NaCl 处理, 生理指标测定, 相关性分析, Q-PCR

**中图分类号:** Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2016)12-1460-08

## Physiological mechanism of cassava South China 8 tissue culture seedling under salt stress

XUE Jing-Jing, ZHU Wen-Li, CHEN Song-Bi\*

(Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences/Key Laboratory of Conservation and Utilization for Cassava Germplasm Resources, Danzhou 571737, Hainan, China)

**Abstract:** The cassava (*Manihot esculenta*) South China 8 (SC8) tissue culture seedlings were conducted to investigate the physiological mechanism in response to salt stress. Effects of MS medium treatment contained NaCl (0, 5, 20, 35, 50 mmol · L<sup>-1</sup> and R50 mmol · L<sup>-1</sup>) on the growth and physiological indexes activities of Cassava SC8 tissue culture seedlings were evaluated. The physiological indexes include chlorophyll, hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), malonaldehyde (MDA) content, and the activities of superoxide dismutases (SOD), catalases (CAT), peroxidase (POD), ascorbate peroxidase (APX). The results of physiological showed that the growth of SC8 tissue culture seedlings did not change significantly after NaCl content (≤20 mmol · L<sup>-1</sup>) stress for 60 d, but high content (≥35 mmol · L<sup>-1</sup>) of the stress had inhibited SC8 tissue culture seedlings growth. The growth of SC8 tissue culture seedlings could be recovered at NaCl con-

收稿日期: 2015-10-27 修回日期: 2016-01-26

**基金项目:** 国家“十二五”农村领域科技计划项目(2012AA101204-2); 海南省高层次创新创业人才启动基金; 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(1630032013005) [Supported by National Scientific and Technological Programs in Rural Fields(2012AA101204-2); the Initial Fund of High-levele Creative Talents in Hainan Province; the National Nonprofit Institute Research Grant of CATAS-TCGRI(1630032013005)].

**作者简介:** 薛晶晶(1983-), 女, 河南灵宝人, 博士, 助理研究员, 研究方向为木薯基因克隆和表观遗传学研究, (E-mail) xuetao608@163.com。

\***通讯作者:** 陈松笔, 博士, 研究员, 从事木薯蛋清蛋白组学研究, (E-mail) songbichen@hotmail.com。

cent ( $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) stress for 30 d after they were transferred to the normal MS medium of 30 d. Chlorophyll and MDA contents were accumulated at NaCl content ( $\leq 35 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) stress, but which were not accumulated at NaCl content ( $\geq 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) stress.  $\text{H}_2\text{O}_2$  content had no obvious change at NaCl content stress which it was compared with control. Activities of antioxidant enzymes including POD, CAT and APX were increased at NaCl stress, whereas the activities of SOD, CAT and APX were decreased at higher NaCl stress. The results of real-time quantitative PCR showed that the expression level of SOD, CAT, POD and APX were higher than control at NaCl content ( $\geq 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) stress. The results indicated that salt stress for a short period of time would not cause devastating damage to cassava, which could improve the salt tolerance of cassava by regulating the activity of physiological indexes.

**Key words:** cassava, NaCl stress, physiological indexes measuring, correlation analysis, Q-PCR

土壤盐渍化是自然界主要的非生物胁迫之一,给农业生产和生态环境带来了巨大的负面影响。日益加剧的土壤盐渍化,主要通过水分胁迫及盐粒子的生理毒害等影响农作物的生长和产量,是制约作物生长的重要因素之一(Xiong et al, 2002; Shereen et al, 2005; Darwish et al, 2009)。盐胁迫会使植物体内的活性氧大量积累,进而造成代谢失衡及膜和其他关键大分子物质的氧化胁迫伤害(Borsani et al, 2001)。因此,植物耐盐性的强弱可以由活性氧清除能力的高低来表示。酶促反应和非酶促反应是植物清除活性氧的两个主要的抗氧化系统(杨涛等, 2003)。酶促反应系统主要包括 SOD、CAT、POD、APX 等酶的活性变化。其中, SOD 属于金属酶,是  $\text{O}_2\cdot$  的主要清除剂,在生物体内普遍存在;而  $\text{H}_2\text{O}_2$  的主要清除剂则是 CAT 和 APX。因此,研究盐胁迫对植物生长的影响,解决生产中的盐害问题是农作物可持续发展的一个重要课题。

木薯 (*Manihot esculenta*) 是大戟科 (Euphorbiaceae) 木薯属 (*Manihot*) 多年生植物,是世界三大薯类作物之一 (Rogers, 1963)。木薯贮藏根淀粉含量在 27%~34% 之间,被誉为“淀粉之王”,是世界热带地区继水稻、玉米、高粱之后的第四大粮食作物,为热带、亚热带近 8 亿人口提供了基本食粮,是我国重要的工业淀粉和生物质能源原料,也是我国潜在的粮食作物 (Gu et al, 2013)。木薯耐旱耐贫瘠,具有很强的适应性,在热带亚热带相对贫瘠地区广泛种植,盐渍地种植不多。目前,有关木薯耐盐方面的研究尚不多,盐胁迫下植物酶促保护系统主要酶的活性变化机理仍不清楚。本研究以不同浓度 NaCl 处理的华南 8 号组培苗为材料,研究盐胁迫下其相关生理指标变化趋势以及部分生理指标转录本水平,探讨盐胁迫下的变化规律,为进一步了解木薯盐胁迫伤害的生理机制奠定基础,为扩大木薯种植区域

提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

选取生长 40 d 左右的木薯华南 8 号 (SC8) 组培苗茎段,分别放于含有 0、5、20、35、50  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 的 MS 培养基上,每瓶放置 5 个茎段,每个处理浓度培养 30 瓶 (其中, 50  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  为 60 瓶)。其中,将含 50  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 培养 30 d 后的组培苗转至 MS 培养基上 (以 R50  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  表示)。待所有处理均生长 60 d,取不同处理的叶片进行生理指标测定和 RNA 提取,每个指标重复 3 次。

### 1.2 方法

1.2.1 盐胁迫下不同生理指标的测定 利用分光光度计测定叶绿素含量;利用电导仪法测定细胞膜透性(李合生, 2006);植物丙二醛 (MDA)、过氧化氢 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )、过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 的测试盒,测定 MDA、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、CAT、SOD、POD 含量,所有测试盒均购自南京建成生物工程研究所,测试方法按说明书进行;抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 试剂盒购自索莱宝生物科技有限公司,测试方法按说明书进行。

1.2.2 总 RNA 提取与 cDNA 合成 木薯组培苗叶片 RNA 提取参照 RNAprep Pure 多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒 (Tiangen) 的操作说明进行,用 Dnase I 柱上消化 RNA 样品中残留的微量 DNA。cDNA 第一链的合成参照 TransScript Reverse Transcriptase (TransGen) 操作说明书进行。

1.2.3 实时荧光定量 PCR 分析 采用 Thermo 公司的实时荧光定量 PCR 系统,实验操作按仪器使用说明书进行。取 1  $\mu\text{g}$  RNA,逆转录合成第一链 cDNA,稀释 10 倍后作为实时定量 PCR 分析的模板。10

$\mu\text{L}$  反应体系中, 包含  $1 \mu\text{L}$  模板、 $5 \mu\text{L}$   $2\times\text{SYBR}$  Premix、 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  QPCR -F 和 QPCR -R 引物(表 1)各  $0.5 \mu\text{L}$ 、灭菌水补足  $10 \mu\text{L}$ 。PCR 反应程序为  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  预变性  $30 \text{ s}$ ; $95 \text{ }^\circ\text{C}$   $10 \text{ s}$ 、 $60 \text{ }^\circ\text{C}$   $20 \text{ s}$ 、 $72 \text{ }^\circ\text{C}$   $20 \text{ s}$ 、共 40 个循环, 循环完后进行产物溶解曲线分析。以 *MeActin* 作为内参基因(表 1), 以  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  算法进行基因的相对定量表达。采用 Duncan 多重比较对对照和处理样品的相对定量结果进行统计分析。

表 1 引物序列  
Table 1 Primer sequences

引物名称 Primer name	序列 Sequence
QPCR-Cu/Zn-SOD-F	5'- ATGTTTCATGCCCTTGGAGAC-3'
QPCR-Cu/Zn-SOD-R	5'- GATCACCAGCATGACGAATG-3'
QPCR-APX2-F	5'-CATTGATAAGGCCAGGAGGA-3'
QPCR-APX2-R	5'- TTGTTAGCAGCATGACCCTG-3'
QPCR-CAT1-F	5'-TGCGAAACAACCTCCCTGTC-3'
QPCR-CAT1-R	5'-ACATCATCGAAGAACCAGGC-3'
QPCR-POD-F	5'- CTCTGTGATTTTTGGTTGCTTCTT-3'
QPCR-POD-R	5'-TTTGTAGAAATTCATGAGAGACC-3'
QPCR-Actin-F	5'-TGATGAGTCTGGTCCATCCA-3'
QPCR-Actin-R	5'-CCTCTACGACCCAATCTCA-3'

### 1.3 分析方法及数据处理

用 GraphPad Prifim 5.0 软件进行数据分析和作图, 用 SPSS18.0 软件进行差异性等相关统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 盐胁迫对木薯 SC8 组培苗生长情况的影响

低浓度的盐胁迫对 SC8 组培苗的影响不明显, 但当浓度提高到  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, SC8 组培苗的生长受到了严重抑制, 生长缓慢; 当 SC8 生长 30 d 后, 将部分受  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 胁迫的组培苗转至正常 MS 培养基上, 30 d 后 SC8 组培苗的长势慢慢恢复, 较  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐胁迫下的长势好(图 1)。

### 2.2 盐胁迫对木薯 SC8 组培苗不同生理指标含量的影响

盐胁迫会使植物体内产生大量活性氧, 进而对植物细胞形成氧化胁迫伤害。所以, 活性氧清除能力的高低反应了植物耐盐性的强弱。SOD、CAT、

POD 及 APX 是酶促防御系统中重要的保护酶, 可以有效地清除膜脂过氧化物对植物造成的伤害。MDA 可以用来衡量膜损伤的程度。

$20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐胁迫下, 叶绿素和 MDA 的含量最高; 随着盐浓度增加, 叶绿素和 MDA 含量逐渐下降, 至  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐胁迫时, 含量达到最低; 但是经过  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐胁迫后, 在正常 MS 培养基上生长的 SC8 组培苗, 其叶绿素含量有很大提高, 而 MDA 含量却略微下降(图 2)。相对电导率表示细胞膜受伤害的程度,  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐胁迫下, 相对电导率最高; 随着盐胁迫浓度的增加, 相对电导率下降。R50  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐胁迫下, 其相对电导率也略有上升。CAT 是对  $\text{H}_2\text{O}_2$  分解的活力单位, 当胁迫浓度达到  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, CAT 活力达最大值, 而 R50  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐胁迫下, CAT 活力下降; 而  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量与其呈相反趋势。35  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐胁迫下, APX 和 POD 的活性最高。盐浓度达到  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 其 APX 活性下降到最低; 恢复生长后, APX 活性有所上升, 但 POD 的活性基本无变化。SOD 活力随着盐胁迫浓度的升高而降低,  $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐胁迫下, SOD 活力最低。这表明木薯 SC8 组培苗受到  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 胁迫时, 生长被抑制, 进而影响其生理指标的含量; 而 R50  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的盐胁迫下, 其相关生理指标含量会随之恢复。

### 2.3 不同生理指标相关性分析

对叶绿素含量、膜透性、MDA、SOD、CAT、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、POD 及 APX 进行相关性分析(表 2)。正常情况下, CAT 与  $\text{H}_2\text{O}_2$  呈极显著正相关; 当添加  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 NaCl 时, 其生理指标无显著相关性; 继续添加 NaCl 至  $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, CAT 与 POD 呈极显著负相关; 当进行  $35 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的盐胁迫时, 细胞膜伤害度与 MDA、CAT 呈显著负相关, 而与 SOD 呈极显著正相关; SOD 与 MDA、CAT 呈显著负相关, MDA 与 CAT 呈极显著正相关, APX 与 POD 呈显著正相关; 当盐胁迫浓度达到  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 其生理指标无显著相关性; 当  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐胁迫恢复生长时, 叶绿素含量与细胞膜伤害度呈显著负相关, POD 与 MDA 呈显著负相关; 说明一定浓度的盐胁迫 ( $35 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 对木薯组培苗的生长具有抑制作用, 其细胞膜受到了严重伤害, 从而通过调节其他生理指标的含量来提高木薯耐盐性; 当  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐胁迫恢复生长时, 木薯组培苗受到的伤害也逐渐恢复, 表明短时间的盐胁迫不会对木薯造成毁灭性伤害,

表 2 盐胁迫下不同生理指标的相关性分析

Table 2 Correlation analysis of the different physiological indexes under salt stress

变量 Variable	处理浓度 Treatment concentration (mmol · L <sup>-1</sup> )	叶绿素总量 Total chlorophyll	膜透性 Membrane permeability	MDA	CAT	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	POD	SOD	APX
叶绿素总量 Total chlorophyll	0	1							
	5	1							
	20	1							
	35	1							
	50	1							
	R50	1							
膜透性 Membrane permeability	0	-0.273	1						
	5	0.924	1						
	20	-0.854	1						
	35	0.888	1						
	50	0.978	1						
	R50	-0.998 *	1						
MDA	0	0.478	-0.975	1					
	5	-0.044	-0.422	1					
	20	0.944	-0.635	1					
	35	-0.897	-1.000 *	1					
	50	-0.855	-0.944	1					
	R50	0.951	-0.967	1					
CAT	0	-0.98	0.075	-0.293	1				
	5	0.995	0.881	0.057	1				
	20	0.996	-0.803	0.97	1				
	35	-0.9	-1.000 *	1.000 * *	1				
	50	0.715	0.845	-0.974	1				
	R50	0.995	-0.988	0.916	1				
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0	-0.98	0.075	-0.293	1.000 * *	1			
	5	-0.706	-0.383	-0.676	-0.774	1			
	20	-0.516	0.887	-0.206	-0.437	1			
	35	-0.932	-0.66	0.675	0.679	1			
	50	0.859	0.734	-0.469	0.258	1			
	R50	-0.448	0.5	-0.704	-0.359	1			
POD	0	0.642	0.563	-0.367	-0.782	-0.782	1		
	5	0.209	0.567	-0.986	0.109	0.544	1		
	20	-0.997	0.808	-0.968	-1.000 * *	0.445	1		
	35	-0.04	0.424	-0.406	-0.401	0.4	1		
	50	0.677	0.508	-0.196	-0.03	0.958	1		
	R50	-0.968	0.981	-0.998 *	-0.939	0.659	1		
SOD	0	-0.8	0.796	-0.91	0.663	0.663	-0.052	1	
	5	0.99	0.968	-0.182	0.971	-0.602	0.342	1	
	20	-0.8	0.37	-0.953	-0.851	-0.101	0.846	1	
	35	0.885	1.000 * *	-1.000 *	-0.999 *	-0.655	0.431	1	
	50	0.568	0.384	-0.058	-0.169	0.909	0.99	1	
	R50	-0.448	0.5	-0.704	-0.359	1.000 * *	0.659	1	
APX	0	0.269	0.853	-0.717	-0.456	-0.456	0.911	0.364	1
	5	-0.794	-0.501	-0.573	-0.851	0.99	0.429	-0.702	1
	20	-0.662	0.175	-0.871	-0.727	-0.3	0.721	0.979	1
	35	-0.102	0.367	-0.348	-0.343	0.456	0.998 *	0.374	1
	50	0.464	0.639	-0.857	0.951	-0.054	-0.338	-0.465	1
	R50	0.965	-0.947	0.835	0.986	-0.197	-0.867	-0.197	1

注: \*. 0.05 水平上显著相关; \*\*. 0.01 水平上显著相关。

Note: \*. indicates significant correlation among different indexes at 0.05 level; \*\*. indicates significant correlation among different indexes at 0.01 level.



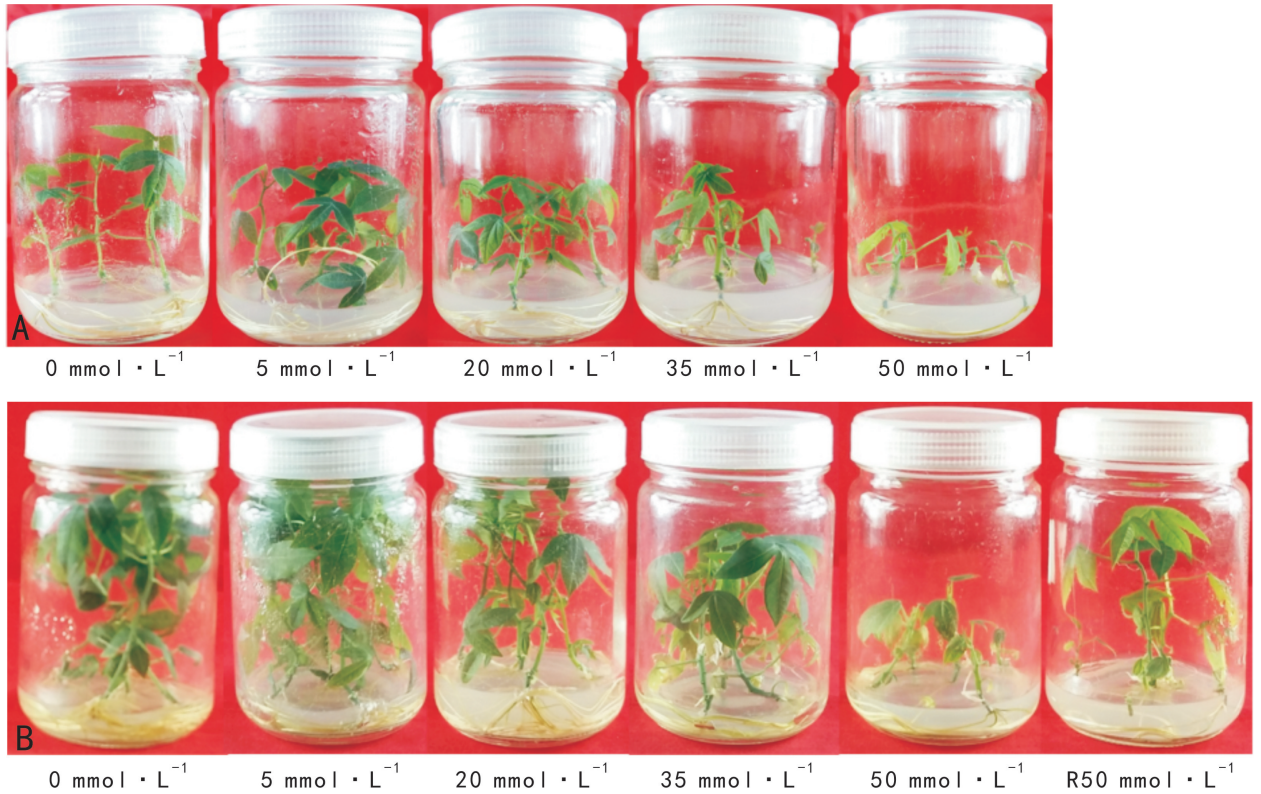


图 1 木薯 SC8 组培苗在不同浓度盐胁迫下生长 30 d (A) 和 60 d (B) 的状况

Fig. 1 Growth status of cassava SC8 tissue culture seedlings under different concentrations of salt stresses for 30 d (A) and 60 d (B)

可以通过正常培养恢复生长。

#### 2.4 生理指标相关基因的表达分析

根据木薯已克隆的 POD 基因序列设计引物,同时引用已发表 CAT、SOD 和 APX 的定量 PCR 引物序列 (Xu et al, 2013, 2014), 对不同浓度盐胁迫后的木薯 SC8 组培苗进行转录本水平的表达分析。图 3 显示, 不同盐浓度胁迫下, APX 的相对表达量与其生理含量呈相反趋势; 50 mmol · L<sup>-1</sup> 时, APX 的表达水平最高; 当组培苗恢复生长时, 其表达水平明显下降。POD 和 SOD 的表达量在 50 mmol · L<sup>-1</sup> 胁迫和 50 mmol · L<sup>-1</sup> 恢复处理下变化不大。CAT 的表达水平随着盐浓度增加, 表达量降低; 而组培苗恢复生长时, 其表达水平到达最低水平。

### 3 讨论与结论

生长受到抑制是植物遭受盐害最直观及最显著的效应 (Munns, 2002)。盐分对植物生长的抑制机理是一个相当复杂的问题, 不同盐类和同一盐类不

同盐浓度、不同植物和同一植物不同器官、不同发育阶段以及盐胁迫时间的长短等, 都会产生不同的结果, 盐分的抑制机理也不相同。本研究中, 5 mmol · L<sup>-1</sup> 和 20 mmol · L<sup>-1</sup> 的 NaCl 处理下, 生长 30 d 的木薯 SC8 组培苗与对照相比无差异。当盐浓度提高至 50 mmol · L<sup>-1</sup> 时, 木薯 SC8 的生长受到严重抑制 (图 1); 将 50 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl 处理 30 d 的 SC8 组培苗部分移至正常 MS 培养基上生长, 发现 30 d 后其生长发育恢复正常, 与未处理的 SC8 组培苗长势无差异。可见, 短时间的盐胁迫对植物的抑制作用可以恢复, 植物在含盐环境下会开启自我保护模式来降低盐胁迫带来的伤害 (肖强等, 2003)。

盐胁迫下, 植物会通过发生氧化胁迫来破坏酶系统对氧代谢的平衡, 植物通过提高自身的抗氧化系统活力来平衡活性氧代谢 (Cheruth et al, 2007)。同时, 盐胁迫会导致植物体内 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 MDA 含量增加 (尤佳等, 2012; 鲁艳等, 2014; 李晓雅等, 2015)。本研究中, SC8 组培苗 MDA 的含量随着 NaCl 浓度的增加呈现先上升后下降的趋势, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的含量在 35

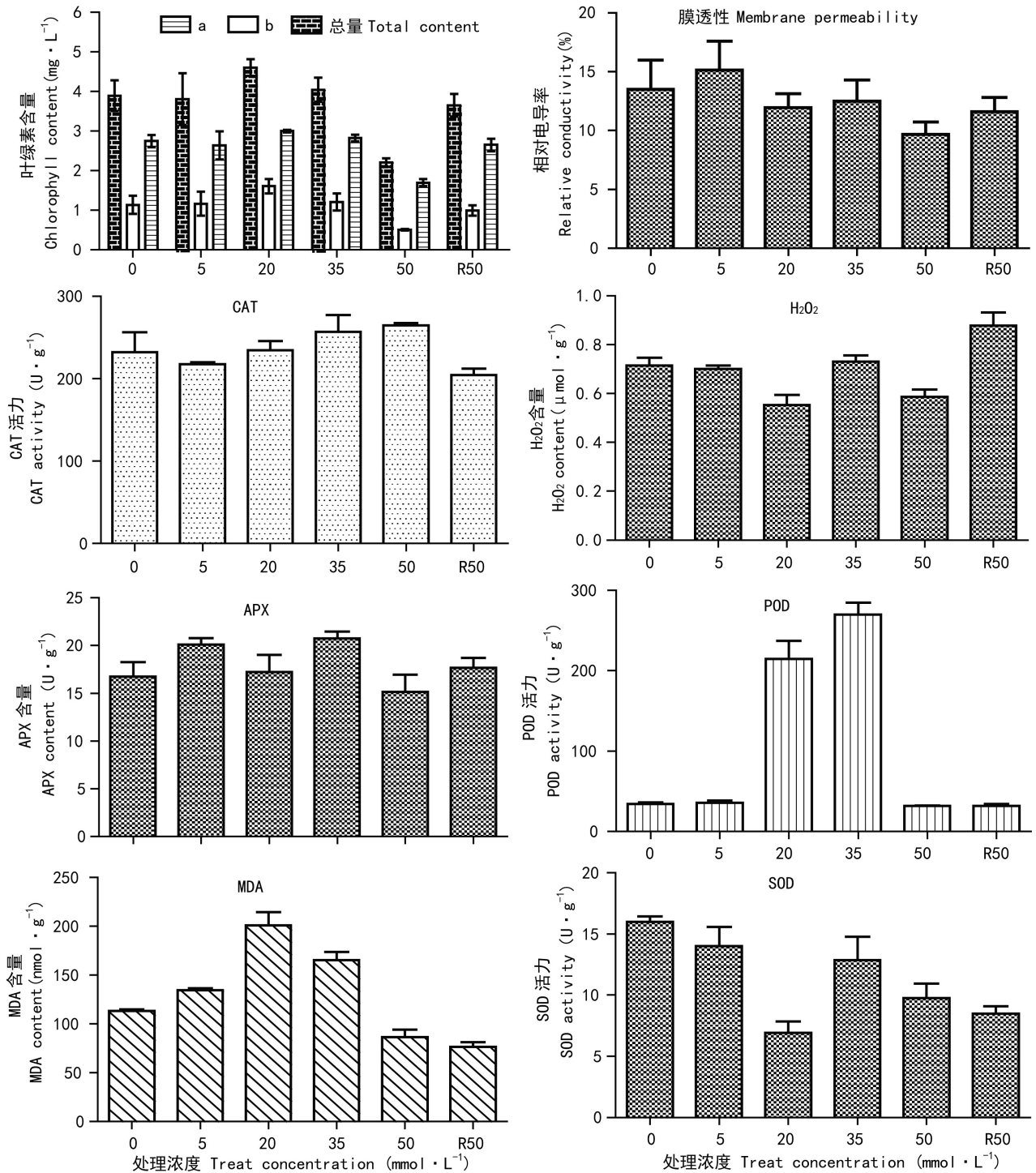


图 2 不同浓度盐胁迫下生理指标的变化趋势

Fig. 2 Variation tendency of the physiological indexes under different concentrations of salt stresses

mmol · L<sup>-1</sup> NaCl 处理时,达到最大;与菊芋块茎盐胁迫 10 d 的变化趋势一致(张喜洋和于涛,2015),而与多枝生柾柳、亚麻荠的研究结果略有不同(鲁艳等,2014;李晓雅等,2015)。可能是因为:第一,本

研究采用的是 SC8 组培苗,其茎段的成熟度不同,同样生长环境下存在个体差异,且 NaCl 是直接加入 MS 培养基中,组培苗的生长有一个较长的适应过程;第二,SC8 组培苗生长 60 d 后,随机选取 3 个培

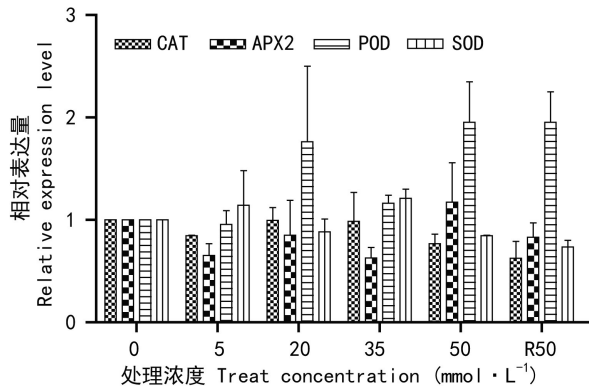


图3 盐胁迫下,不同生理指标相关基因的表达水平  
Fig. 3 Expression level of genes of different physiological indexes under salt stress

养瓶中的叶片进行  $H_2O_2$  和 MDA 含量测定,其测定结果会有一定的偏差。

植物体内具有复杂的抗氧化酶系统,能够清除胁迫产生的大量 ROS。研究表明,盐胁迫下植物体内 SOD、CAT、APX 和 POD 等抗氧化酶活性的增强有利于减少体内 ROS 积累,从而减轻 ROS 引起的过氧化伤害 (Dehghan et al, 2013; Mishra et al, 2013; Seckin et al, 2010)。本研究中,低浓度盐胁迫时,SOD、CAT、APX、POD 等酶活性无显著变化,表明木薯可以通过调节酶活性来减少盐胁迫产生的超氧化物自由基的伤害;但是当盐浓度达到  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,胁迫产生的伤害越来越严重,SC8 组培苗无法保持高水平的酶活性,酶活力下降。这一结果与多枝桉柳、棉花、大麦、烟草的研究结果类似 (鲁艳等, 2014; Meloni et al, 2003; Badawi et al, 2004; Liang et al, 2003)。另外,  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 处理 30 d 后恢复生长的 SC8 组培苗的 APX 酶活性会提高,但是 SOD、CAT、MDA、POD 等含量低于  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 胁迫时的含量,推测可能是盐胁迫产生的伤害未消除,使其酶活性受到了影响。本研究进一步对 APX、SOD、CAT 及 POD 相关基因的表达水平进行分析,结果表明:盐胁迫下,APX 的相对表达量与其生理含量呈相反趋势;NaCl 浓度达  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,APX 的表达水平最高;当组培苗恢复生长时,其表达水平明显下降。POD 和 SOD 的表达量在  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 胁迫和恢复处理后变化不大;而 CAT 表达水平随着盐浓度增加而降低。基因的表达水平与生理指标的变化趋势存在差异,可能

是因为:第一,本研究中每个酶只选择其中的一个基因进行表达水平分析,而不是分析整个家族的基因,存在一定的片面性;第二,酶起作用时还会受到其他的修饰,而基因的表达只是单一的转录本水平。

本研究是对不同浓度盐胁迫下的木薯 SC8 组培苗进行生理指标测定,该组培苗在培养时一直处于盐胁迫状态;我们将 SC8 组培苗移栽至大田中,比较其与正常种植的木薯 SC8 的田间长势;进一步对其进行盐胁迫,对盐胁迫后的 SC8 组培苗的耐盐性与正常种植的 SC8 进行研究,为木薯耐盐种质的选育及木薯耐盐机理的研究提供依据。

### 参考文献:

- BADAWI GH, YAMAUCHI Y, SHIMADA E, et al, 2004. Enhanced tolerance to salt stress and water deficit by overexpressing superoxide dismutase in tobacco (*Nicotiana tabacum*) chloroplasts [J]. *Plant Sci*, 166(40): 919-928.
- BORSANI O, VALPUESTA V, BOTELLA MA, 2001. Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in *Arabidopsis* seedlings [J]. *Plant Physiol*, 126(3): 1024-1030.
- CHERUTH AJ, RAGUPATHI G, PARAMASIVAM M, et al, 2007. Responses of antioxidant defense system of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. to paclobutrazol treatment under salinity [J]. *Acta Physiol Plant*, 29(3): 205-209.
- DARWISH E, TESTERINK C, KHALIL M, et al, 2009. Phospholipid signaling responses in salt-stressed rice leaves [J]. *Plant Cell Physiol*, 50: 986-997.
- DEHGHAN G, AMJAD L, NOSRATI H, 2013. Responses of Alfalfa leaves and roots under different salinity levels [J]. *Acta Biol Hung*, 64: 207-217.
- GU B, YAO QQ, LI KM, et al, 2013. Change in physicochemical traits of cassava roots and starches associated with genotypes and environmental factors [J]. *Starch*, 65: 253-263.
- LIANG YC, CHEN Q, ZHANG WH, et al, 2003. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.) [J]. *J Plant Physiol*, 160(10): 1157-1164.
- LI HS, 2006. The experiment principles and techniques of plant physiology and biochemistry [M]. Beijing: Higher Education Press: 134-137; 261-263. [李合生, 2006. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社: 134-137; 261-263.]
- LI XY, ZHAO CZ, CHEN XJ, et al, 2015. Effects of salt stress on physiological and biochemical indexes of *Camelina sativa* seedlings [J]. *Acta Agric Boreal-Occident Sin*, 24(4): 76-83. [李晓雅, 赵翠珠, 程小军等, 2015. 盐胁迫对亚麻荠幼苗生理生化指标的影响 [J]. 西北农业学报, 24(4): 76-83.]
- LU Y, LI JQ, ZENG FJ et al, 2014. Effects of NaCl treatments on growth and eco-physiological characteristics of *Tamarix ramosissima* [J]. *J Desert Res*, 34(6): 1509-1515. [鲁艳, 雷加强, 曾凡江等, 2014. NaCl 处理对多枝生桉柳 (*Tamarix ramosissima*) 生长及生理的影响 [J]. 中国沙漠, 34(6): 1509-1515.]
- MELONI DA, OLIVA MA, CAMBRAIA J, 2003. Photosynthesis and



- activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress [J]. *Environ Exp Bot*, 49 (1): 69-76.
- MISHRA P, BHOOMIKA K, DUBEY RS, 2013. Differential responses of antioxidative defense system to prolonged salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive Indica rice (*Oryza sativa* L.) seedlings [J]. *Protoplasma*, 250: 3-19.
- MUNNS R, 2002. Comparative physiology of salt and water stress [J]. *Plant Cell Environ*, 25: 239-250.
- ROGERS DJ, 1963. Studies on *Manihot esculenta* Crantz (cassava) and related species [J]. *Bull Torrey Bot Club*, 90: 42-54.
- SECKIN B, TURKAN I, SEKMEN AH, et al, 2010. The role of antioxidant defense systems at differential salt tolerance of *H. maritimum* Huds. (sea barleygrass) and *Hordeum vulgare* L. (cultivated barley) [J]. *Environ Exp Bot*, 69: 76-85.
- SHEREEN A, MUMTAZ S, RAZA S, et al, 2005. Salinity effects on seedling growth and yield components of different inbred rice lines [J]. *Pakistan J Bot*, 37: 131-139.
- XIAO Q, ZHENG HL, CHEN Y, et al, 2005. Effects of salinity on the growth and proline, soluble sugar and protein contents of *Spartina alterniflora* [J]. *Chin J Ecol*, 24(4): 373-376. [肖强, 郑海雷, 陈瑶等, 2005. 盐度对互花米草生长及脯氨酸、可溶性糖和蛋白质含量的影响 [J]. *生态学杂志*, 24(4): 373-376.]
- XIONG L, SCHUMAKER KS, ZHU JK, 2002. Cell signaling during cold, drought, and salt stress [J]. *Plant Cell*, 14: S165-S183.
- XU J, DUAN XG, YANG J, et al, 2013. Enhanced reactive oxygen species scavenging by overproduction of superoxide dismutase and catalase delays postharvest physiological deterioration of cassava storage roots [J]. *Plant Physiol*, 16: 1517-1528.
- XU J, YANG J, DUAN XG, et al, 2014. Increased expression of native cytosolic Cu/Zn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase improves tolerance to oxidative and chilling stress in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) [J]. *BMC Plant Biol*, 14: 208.
- YANG T, YAN CL, LI YH, 2003. Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> accumulation and salt resistance of *Casuarina equisetifolia* seedlings under salt stress [J]. *Fujian J Agric Sci*, 18(3): 155-159. [杨涛, 严重玲, 李裕红, 2003. 盐胁迫下木麻黄幼苗的 Na<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup> 累积及其抗盐能力评价 [J]. *福建农业学报*, 18(3): 155-159.]
- YOU J, WANG WR, LU J, et al, 2012. Effects of salinity on seed germination and seedling growth in halophyte *Limonium aureum* L. Hill [J]. *Acta Ecol Sin*, 32(12): 3825-3833. [尤佳, 王文瑞, 卢金等, 2012. 盐胁迫对盐生植物黄花补血草种子萌发和幼苗生长的影响 [J]. *生态学报*, 32(12): 3825-3833.]
- ZHANG XY, YU T, 2015. Study on response of ROS and antioxidant enzyme activity in sprouting jerusalem artichoke tubers under salt stress [J]. *Mod Agric Sci Technol*, 19: 89-90, 93. [张喜洋, 于涛, 2015. 盐胁迫下菊芋块茎萌芽成苗过程中活性氧与抗氧化酶活性的变化研究 [J]. *现代农业科技*, 19: 89-90, 93.]
- ( 上接第 1504 页 Continue from page 1504 )
- Ed), 51(2): 385-390. [杨宁, 丁芳霞, 王程亮, 等, 2014. 低温胁迫对高山离子芥试管苗渗透调节物质及保护酶系的影响 [J]. *四川大学学报(自然科学版)*, 51(2): 385-390.]
- YANG N, QIANG ZQ, CHEN X, 2014. The coding sequence clone and expression vector construction of PLD $\alpha$  gene from *Chorisporea Bungeana* [J]. *J NW Norm Univ (Nat Sci Ed)*, 50(3): 94-98. [杨宁, 强治全, 陈霞, 等, 2014. 高山离子芥磷脂酶 D $\alpha$  编码区基因序列克隆与表达载体构建 [J]. *西北师范大学学报(自然科学版)*, 50(3): 94-98.]
- YANG N, YU EXL, CHEN XL, et al, 2012. Molecular cloning and partial characterization of a novel phospholipase D gene from *Chorisporea bungeana* [J]. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 108(2): 201-212.
- YANG XJ, 2014. Plant VKOR redox function of essential amino acids and resilience [D]. Taian: Shandong Agriculture University. [杨晓健, 2014. 植物 VKOR 氧化还原功能必须氨基酸及抗逆功能的研究 [D]. 泰安: 山东农业大学.]
- YANG YL, YANG N, WANG L, et al, 2007. Effect of salinity on the physiological characteristic in two wheat cultivars [J]. *J Lanzhou Univ (Nat Sci Ed)*, 43(2): 30. [杨颖丽, 杨宁, 王莱, 等, 2007. 盐胁迫对小麦幼苗生理指标的影响 [J]. *兰州大学学报(自然科学版)*, 43(2): 30.]
- ZHANG F, 2010. Sphaerocephala ferritin gene into *Nicotiana tabacum* and drought detection [D]. Lanzhou: Lanzhou University. [张芳, 2010. 白沙蒿铁蛋白基因对烟草的遗传转化及抗旱性检测 [D]. 兰州: 兰州大学.]
- ZHANG HY, ZHAO KF, 1998. Effects of salt and water stress on osmotic *S. salsa* moderating [J]. *J Plant*, 40 (1): 56-61. [张海燕, 赵可夫, 1998. 盐分和水分胁迫对盐地碱蓬幼苗渗透调节效应的研究 [J]. *植物学报*, 40 (1): 56-61.]
- ZHAO LY, DENG XP, SHAN L, 2005. The response mechanism of active oxygen species removing system to drought stress [J]. *Acta Botanica Boreal-Occident Sin*, 25(2): 413-418. [赵丽英, 邓西平, 山仑, 2005. 活性氧清除系统对干旱胁迫的响应机制 [J]. *西北植物学报*, 25(2): 413-418.]
- ZENG SX, WANG YR, 1990. Effects of low temperature stress on *Cucumber* ascorbate peroxidase activity and glutathione content [J]. *Acta Phytophysiol Sin*, 16(1): 37-42. [曾韶西, 王以柔, 1990. 低温胁迫对黄瓜子叶抗坏血酸过氧化物酶活性和谷胱甘肽含量的影响 [J]. *植物生理学报*, 16(1): 37-42.]
- ZHANG ZJ, 2007. ERFERF protein TERF1 ethylene biosynthesis and regulation of tobacco increase osmotic stress tolerance molecular mechanism [D]. Beijing: China Agriculture University. [张执金, 2007. ERFERF 蛋白 TERF1 调控烟草乙烯生物合成并提高渗透胁迫耐性的分子机理 [D]. 北京: 中国农业大学.]
- ZHANG ZL, QU WQ, 2003. The direction of plant physiological experiment [M]. Beijing: Higher Education Press: 101-102. [张志良, 瞿伟菁, 2003. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社: 101-102.]