

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201701011

引文格式: 尚玥, 刘韬, 吴丽军, 等. 不同倍性小麦对盐胁迫的适应性差异 [J]. 广西植物, 2017, 37(12):1560–1571
SHANG Y, LIU T, WU LJ, et al. Different adaptations to salt stress in different ploidies of wheat [J]. *Guihaia*, 2017, 37(12):1560–1571

不同倍性小麦对盐胁迫的适应性差异

尚 玥^{1,3,4}, 刘 韬^{1,3,4}, 吴丽军^{1,3,4}, 张 波^{1,4}, 刘宝龙^{1,4},
陈文杰^{1,4}, 张连全², 张怀刚^{1,4}, 刘登才^{1,2,4*}

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008; 2. 四川农业大学 小麦研究所, 成都 611130;
3. 中国科学院大学, 北京 100049; 4. 青海省作物分子育种重点实验室, 西宁 810008)

摘 要: 为了揭示不同倍性小麦适应盐胁迫的差异, 该研究以人工合成六倍体 (AABBDD) 小麦及其四倍体 (AABB) 小麦 (*Triticum turgidum*) 和二倍体 (DD) 节节麦 (*Aegilops tauschii*) 亲本为材料, 研究了不同浓度 NaCl (0、200 mmol · L⁻¹) 胁迫处理下小麦幼苗 K⁺、Na⁺ 含量以及 K⁺/Na⁺ 的变化规律, 以及不同浓度 (0、50、100、200 mmol · L⁻¹) 盐胁迫对超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和过氧化物酶 (POD) 活性、丙二醛 (MDA) 含量、脯氨酸含量、可溶性蛋白和可溶性糖含量的影响规律。结果表明: 四倍体表现出显著的高 Na⁺ 低 K⁺ 以及较低的 K⁺/Na⁺, 二倍体表现出显著的低 Na⁺ 高 K⁺ 和较高的 K⁺/Na⁺, NaCl 胁迫时离子含量变化大, 对盐胁迫的适应性更强, 六倍体在积累 K⁺ 的能力上也有一定的优势。低浓度 (50~100 mmol · L⁻¹) 盐胁迫使 3 种倍性材料的丙二醛含量和抗氧化酶活性升高。四倍体在累积渗透调节物质和调节抗氧化酶活性的能力上显著强于二倍体和六倍体, 六倍体在 POD 活性以及积累脯氨酸和可溶性蛋白的能力上也具有一定的优势。根据研究结果推测, 含有 DD 染色体组的二倍体节节麦主要通过调节 K⁺/Na⁺ 来适应盐胁迫, 而含有 AABB 染色体组的四倍体小麦主要通过调节抗氧化酶的活性累积渗透调节物质来适应盐胁迫, 作为二倍体和四倍体远缘杂种的人工合成六倍体小麦则表现出了综合的耐盐适应性机制, 相较于两亲本具有更加广泛耐盐适应性。

关键词: 小麦, 异源多倍化, 盐胁迫, K⁺/Na⁺, 抗氧化系统

中图分类号: Q945.78, S512.1, S332.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2017)12-1560-12

Different adaptations to salt stress in different ploidies of wheat

SHANG Yue^{1,3,4}, LIU Tao^{1,3,4}, WU Li-Jun^{1,3,4}, ZHANG Bo^{1,4}, LIU Bao-Long^{1,4},
CHEN Wen-Jie^{1,4}, ZHANG Lian-Quan², ZHANG Huai-Gang^{1,4}, LIU Deng-Cai^{1,2,4*}

(1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China; 2. Triticeae Research Institute, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 4. Key Laboratory of Crop Molecular Breeding of Qinghai Province, Xining 810008, China)

收稿日期: 2017-03-03 修回日期: 2017-04-19

基金项目: 中国科学院战略性 A 类先导科技专项子课题 (XDA08030106); 中国科学院西部之光一般项目; 青海省重点研发与转化计划项目 (2016-HZ-808) [Supported by the Strategic Priority Research Program of Chinese Academy of Sciences (XDA08030106); CAS “Light of West China” Program; the Key Research Program of Qinghai Province (2016-HZ-808)]。

作者简介: 尚玥 (1991-), 女, 四川南部人, 硕士研究生, 主要从事小麦遗传育种研究, (E-mail) shangyue14@mails.ucas.ac.cn。

***通信作者:** 刘登才, 男, 研究员, 博士生导师, 主要从事小麦遗传育种研究, (E-mail) deliu7@yahoo.com。

Abstract: In order to investigate different adaptations to salt stress in different ploidy levels of wheat, K^+ and Na^+ content, K^+/Na^+ ratio, the activity of SOD, CAT, POD and the contents of MDA, soluble protein, and soluble sugar were analyzed in synthetic hexaploid (AABBDD) wheat and its tetraploid (AABB) wheat (*Triticum turgidum*) and diploid (DD) (*Aegilops tauschii*) parents after treated with 0, 50, 100, and 200 mmol $\cdot$ L⁻¹ NaCl. The results showed that tetraploid wheat had the highest concentration of Na^+ , the lowest concentration of K^+ and a low K^+/Na^+ , diploid wheat had the highest concentration of K^+ , the lowest concentration of Na^+ and high K^+/Na^+ . The change of K^+ and Na^+ in diploid wheat was more obvious than that in tetraploid and hexaploid synthetic wheat under salinity stress. The hexaploid synthetic wheat showed a relative advantage of accumulating K^+ compared with tetraploid wheat. Low concentration of NaCl (50 and 100 mmol $\cdot$ L⁻¹) stress stimulated the accumulation of MDA and increase of antioxidant enzyme activity in three ploidy levels of materials. The tetraploid wheat showed a significant superiority to accumulate osmotic adjustment substances and kept higher activity of antioxidant enzymes than diploid and hexaploid materials. Meanwhile, hexaploid synthetic wheat displayed a strong ability of accumulating soluble protein and proline as well as enhancing POD activity. Our results suggested that the diploid containing DD genome may mainly adapt to salt stress by regulating K^+/Na^+ ratio while the tetraploid containing AABB genome may mainly adapt to salt stress by regulating antioxidant enzyme activity and accumulating more osmotic adjustment substances. The hexaploid synthetic wheat containing AABBDD exhibited the comprehensive adaptation mechanisms to salt stress, may express a broader adaptation ability to salt stress compared with the tetraploid and diploid parents.

Key words: wheat, allohexaploidization, salt stress adaptation, K^+/Na^+ ratio, antioxidant system

土壤盐渍化是世界范围内影响作物产量的主要非生物胁迫因子之一。由于世界上存在大量盐碱地和盐渍化土壤,相当大的一部分农作物品种因受不同程度盐害的影响难以发挥其增产的潜力,严重制约农业的发展,改良作物的耐盐能力,是解决土地盐碱化的有效途径。多倍化是影响基因组大小和基因拷贝数目的主要进化因素和遗传变异的重要机制,在真核生物进化中发挥了重要作用(刘宝和郝水,2007)。普通小麦(*Triticum aestivum*)作为典型的异源多倍体,在从二倍体野生近缘种进化到现代六倍体品种的漫长过程中承受了自然和人工双重选择压力(杨继,2001)。不同小麦基因型所携带的遗传信息不同,而不同的遗传信息又形成于小麦的进化过程中,并储存在不同基因型小麦的染色体内,因而不同倍性小麦对环境的适应性以及其抗逆性之间存在显著差异却又有密切联系(Osborn,2003;王涛等,2015)。

近几年来,国内外的小麦育种、栽培和生理学家在小麦耐盐性方面开展了大量工作。大量研究表明,小麦耐盐性与植株对 Na^+ 和 K^+ 的选择性运输能力以及 K^+/Na^+ 的保持能力有关(陆嘉惠等,2013)。同时,

一些保护性酶类与小麦耐盐性密切相关,其中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等与小麦的耐盐性成正相关(Yoshida,1997;贺岩等,2005;张海娜等,2008;张敏等,2010;孟祥浩等,2014;刘凤歧等,2015)。由于小麦耐盐性是多基因控制的多种生理生化代谢的综合表现,耐盐性鉴定研究比较复杂。这些结果对小麦耐盐性的生理适应性鉴定具有重要参考价值。

目前对小麦的耐盐性研究主要集中在同一倍性不同小麦品种或基因型的比较研究,缺乏针对不同倍性的比较研究。本实验以具有不同染色体组且具有亲缘关系的三种小麦材料为对象,研究不同浓度盐处理对小麦抗氧化酶活性、丙二醛、脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量以及对 Na^+ 和 K^+ 的含量和 K^+/Na^+ 的影响,揭示耐盐性在不同倍性小麦材料中的变化趋势,为小麦耐盐育种提供理论依据和材料来源。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

供试的小麦材料包括(1)二倍体节节麦 AS60

(*Aegilops tauschii* ssp. *tauschii*) 和 AS66 (*Aegilops tauschii* ssp. *strangulata*), 染色体组为 DD。(2)野生二粒小麦 AS285 (*T. turgidum* ssp. *dicoccoides*) 和 AS286 (*T. turgidum* ssp. *dicoccoides*), 染色体组为 AABB。(3) Syn-SAU-3: AS285 和 AS60 产生的远缘杂种, 经染色体自然加倍得到的人工合成六倍体小麦 (Zhang et al, 2011), 染色体组为 AABBDD。(4) Syn-SAU-29: AS286 和 AS66 产生的远缘杂种, 经染色体自然加倍得到的人工合成六倍体小麦 (Zhang et al, 2011), 染色体组为 AABBDD。Syn-SAU-3 和它的亲本材料 AS285 和 AS60 构成一个实验组, 而 Syn-SAU-29 和它的亲本材料 AS286 和 AS66 构成另一个实验组。

1.2 方法

1.2.1 植物材料培养 所用材料在光照培养室萌发, 光照周期为 16 h/8 h, 温度 24 ℃, 相对湿度 70%。种子摆放在铺有双层滤纸的重蒸馏水中, 种子萌发至幼苗株 8~10 cm 时进行移栽。材料采用水培养, 将小麦幼苗移栽至 Hoagland 营养液中生长(营养液配方通过调整降低 Ca^{2+} 的浓度为 0.5 mmol · L⁻¹, 避免对 Na^+ 流入的抑制; 同时降低营养液中 Na^+ 和 K^+ 的浓度分别为 0 和 6 mmol · L⁻¹, 避免对植物组织中 Na^+ 和 K^+ 含量的测定造成影响), 生长期间 3 d 更新一次营养液。

1.2.2 NaCl 胁迫处理 K^+ 、 Na^+ 含量的测定设置 0 mmol · L⁻¹ NaCl 和 200 mmol · L⁻¹ NaCl 两个处理, 每个处理设置 3 个重复, 每个重复 3 株幼苗, 幼苗生长至三叶一心时, 向 200 mmol · L⁻¹ NaCl 处理组小麦 Hoagland 营养液中添加 200 mmol · L⁻¹ NaCl, 0 mmol · L⁻¹ NaCl 处理组不添加 NaCl, 胁迫处理 5 d。其余生理生化指标的测定设置 0、50、100、200 mmol · L⁻¹ NaCl 共 4 个处理。幼苗生长至三叶一心期时, 为避免盐激反应, NaCl 处理按每天 50 mmol · L⁻¹ 的浓度逐步递增至终浓度并保持 48 h。

1.3 测定指标与评价方法

1.3.1 K^+ 、 Na^+ 含量的测定 盐胁迫结束后立即取 3 株小麦幼苗用蒸馏水洗净, 吸水纸吸干表面水分, 滤纸擦净后, 取茎叶转移至纸袋于 50 ℃烘箱内烘干至恒重。取干燥的样品剪碎称重(干重, DW),

加入 HNO_3 浸泡消解 24 h 后于石墨板 115 ℃消化 40 min, 使酸挥发 20 min 后定容至 50 mL, 使用高分辨电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)测定 K^+ 、 Na^+ 含量。

1.3.2 酶活性及各生理指标的测定 盐胁迫结束后, 立即将小麦幼苗取出用蒸馏水洗净, 滤纸吸干表面水分, 擦净后取新鲜叶片组织, 利用分光光度法测定过氧化物酶 POD 活性(李合生, 2000)、紫外吸收法测定过氧化氢酶 CAT(李合生, 2000)、氮蓝四唑(NBT)光化还原法测定超氧化物歧化酶 SOD(贺岩等, 2005; 张海娜等, 2008)、硫代巴比妥酸(TBA)法测定丙二醛 MDA 含量(郑世英等, 2010)、分光光度法测定脯氨酸含量(朱广廉等, 1983)、蒽酮比色法测定可溶性糖的含量(张振清, 1980)、考马斯亮蓝 G-250 染色法测定可溶性蛋白含量(赵可夫, 1999)。

1.4 实验数据处理与统计分析

采用 Microsoft office Excel 2010 软件对实验数据进行处理, SPSS 19.0 统计软件进行数据的统计分析, 最小显著差数(LSD)法进行多重比较, 结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 利用 Microsoft office Excel 2010 和 SPSS 19.0 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫对小麦 K^+ 、 Na^+ 含量的影响

2.1.1 盐胁迫下小麦茎叶中 K^+ 、 Na^+ 含量变化 从表 1 和图 1 可以看出, 0 mmol · L⁻¹ NaCl 时, 两组亲缘关系的小麦材料幼苗中 K^+ 含量均为二倍体>六倍体>四倍体, 且两个组合中的四倍体 K^+ 含量均显著低于二倍体, 第二个组合中四倍体 K^+ 含量极显著低于二倍体和六倍体, 二倍体和六倍体 K^+ 含量无显著差异。200 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫时, 所有小麦材料茎叶中 K^+ 离子含量均降低, 两组亲缘关系的小麦材料幼苗中 K^+ 含量仍均为二倍体>六倍体>四倍体, 且两个组合中的四倍体 K^+ 含量均显著低于二倍体。

从表 1 和图 2 可以看出, 0 mmol · L⁻¹ NaCl 时, 第一个亲缘关系组合 Na^+ 含量四倍体>二倍体>六倍体, 第二个组合中四倍体>六倍体>二倍体, 二倍

表 1 盐胁迫下不同倍性小麦幼苗茎叶中 K⁺、Na⁺含量以及 K⁺/Na⁺比值的变化

Table 1 Changes of K⁺, Na⁺ content and K⁺/Na⁺ ratio in wheat seedlings under salt stress in different ploidies of wheat

倍性 Ploidy	指标 Index	材料 Accession	盐胁迫浓度 Salt stress concentration (mmol · L ⁻¹)		材料 Accession	盐胁迫浓度 Salt stress concentration (mmol · L ⁻¹)	
			0	200		0	200
二倍体 Diploid	K ⁺ (mg · g ⁻¹ DW)	AS60 (DD)	70.5 ± 1.8a	56.6 ± 3.7a	AS66 (DD)	76.6 ± 1.1A	34.6 ± 2.8a
	Na ⁺ (mg · g ⁻¹ DW)		0.34 ± 0.0a	33.8 ± 2.9B		0.1 ± 0.0B	27.4 ± 6.1B
	K ⁺ /Na ⁺		190.9 ± 20.3a	1.7 ± 0.0ab		637.7 ± 25.9A	2.7 ± 0.0A
	ΔK ⁺ /Na ⁺		189.1 ± 20.0			635.0 ± 25.7	
四倍体 Tetraploid	K ⁺ (mg · g ⁻¹ DW)	AS285 (AABB)	53.5 ± 4.9b	62 ± 2.1b	AS286 (AABB)	45.1 ± 3.8B	52.6 ± 2.6b
	Na ⁺ (mg · g ⁻¹ DW)		0.4 ± 0.0a	23.3 ± 2.4B		0.3 ± 0.0A	75.1 ± 4.4B
	K ⁺ /Na ⁺		154.6 ± 14.3a	2.3 ± 0.1a		140.7 ± 25.4B	1.2 ± 0.0B
	ΔK ⁺ /Na ⁺		152.4 ± 24.6			139.5 ± 25.2	
六倍体 Synthetic Hexaploid	K ⁺ (mg · g ⁻¹ DW)	Syn-SAU-3 (AABBDD)	63.5 ± 3.6ab	42.6 ± 2.3ab	Syn-SAU-29 (AABBDD)	75.3 ± 5.5A	56.4 ± 5.6ab
	Na ⁺ (mg · g ⁻¹ DW)		0.2 ± 0.0a	21.7 ± 4.9A		0.2 ± 0.0A	60.0 ± 3.5A
	K ⁺ /Na ⁺		268.1 ± 38.6a	0.7 ± 0.1b		406.2 ± 19.3A	1.0 ± 0.1B
	ΔK ⁺ /Na ⁺		267.4 ± 38.7			405.2 ± 39.4	

注:不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。下同。
Note: Different small letters show the significant differences ($P<0.05$), different capital letters show the significant differences ($P<0.01$). The same below.

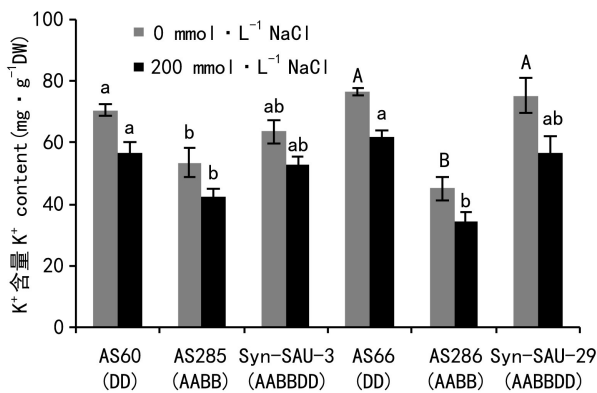


图 1 盐胁迫下不同倍性小麦幼苗茎叶中 K⁺含量
Fig. 1 K⁺ content in wheat seedlings under salt stress in different ploidies of wheat

体材料 AS66 的 Na⁺含量极显著低于二倍体和四倍体。200 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫时,两个亲缘关系组

合中的六倍体 Na⁺含量均显著高于二倍体和四倍体,而二倍体和四倍体之间无显著差异。
2.1.2 不同倍性小麦 K⁺/Na⁺以及 K⁺/Na⁺比值的变化 从表 1 和图 3 可以看出,0 mmol · L⁻¹ NaCl 处理时,第一个亲缘关系组合 K⁺/Na⁺六倍体>二倍体>四倍体,三者间无显著差异,200 mmol · L⁻¹ NaCl 盐胁迫处理下,四倍体 AS285 的 K⁺/Na⁺高于二倍体 AS60 但不显著,六倍体 Syn-SAU-3 的 K⁺/Na⁺显著低于二倍体和四倍体。第二个亲缘关系组合中的四倍体 AS286 的 K⁺/Na⁺在 0 mmol · L⁻¹ NaCl 处理时极显著低于二倍体 AS66 和六倍体 Syn-SAU-29,200 mmol · L⁻¹盐胁迫处理下,二倍体 AS66 的 K⁺/Na⁺显著高于四倍体和六倍体,四倍体和六倍体之间无显著差异。小麦幼苗 K⁺/Na⁺的变化程度通过 ΔK⁺/Na⁺值的大小来体现。

$$\Delta K^{+}/Na^{+} = |(K^{+}/Na^{+})_{0\text{ mmol}\cdot L^{-1}\text{ NaCl}} - (K^{+}/Na^{+})_{200\text{ mmol}\cdot L^{-1}\text{ NaCl}}|$$

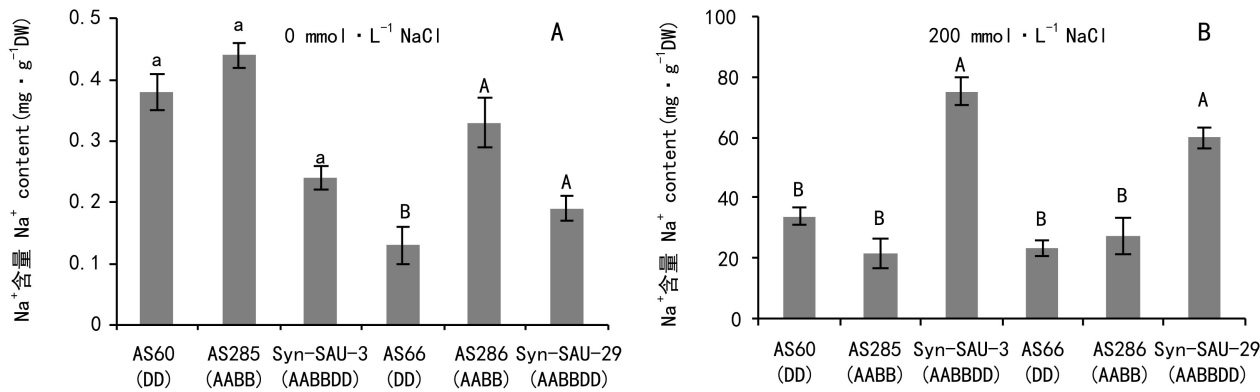


图 2 盐胁迫下不同倍性小麦幼苗茎叶中 Na⁺ 含量

Fig. 2 Na⁺ content in wheat seedlings under salt stress in different ploidies of wheat

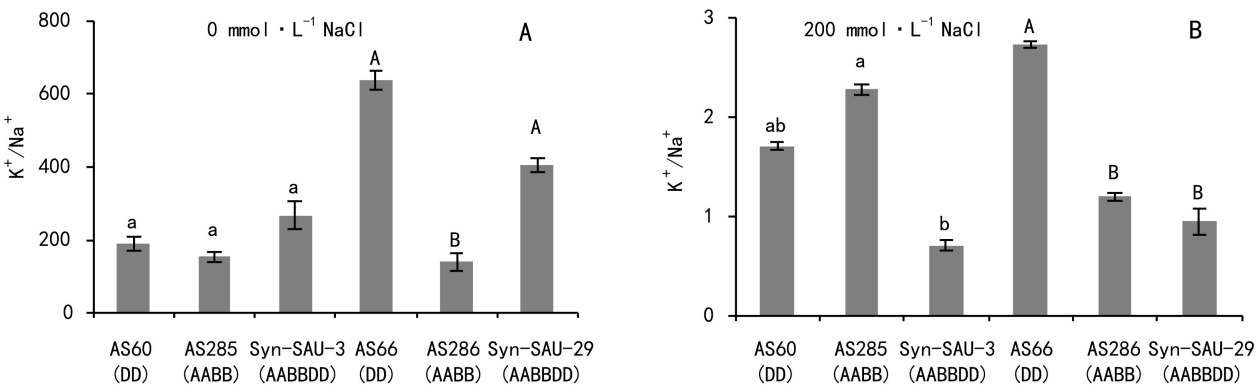


图 3 盐胁迫下不同倍性小麦幼苗中的 K⁺/Na⁺

Fig. 3 K⁺/Na⁺ in wheat seedlings under salt stress in different ploidies of wheat

从表 1 和图 4 可以看出,盐胁迫下六个小麦材料 K⁺/Na⁺ 有不同程度的变化,两个组合中四倍体 K⁺/Na⁺ 的变化程度均低于其他材料。第一个亲缘关系组合中,六倍体 Syn-SAU-3 的 $\Delta K^+/Na^+$ 稍高于其亲本二倍体 AS60 和四倍体 AS285;在第二个亲缘关系组合中,二倍体 AS66 的 $\Delta K^+/Na^+$ 极显著的大于四倍体 AS286,但与六倍体 Syn-SAU-29 之间无极显著差异。由此看出,二倍体材料 AS66、六倍体材料 Syn-SAU-3 和 Syn-SAU-29 对盐胁迫适应能力更强。

2.2 NaCl 胁迫对抗氧化酶活性的影响

2.2.1 对三种倍性小麦 SOD 活性的影响 图 5 为不同浓度盐胁迫对三种倍性小麦的超氧化物歧化

酶 SOD 活性 (U · g⁻¹ FW) 的影响。随着盐胁迫浓度加大,6 个材料 SOD 活性均升高。二倍体材料 AS60 和 AS66 的 SOD 活性分别在 50 mmol · L⁻¹ 和 100 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫时达到峰值,之后随着盐胁迫浓度继续升高而降低;四倍体材料 SOD 活性随盐胁迫浓度增大,始终呈缓慢升高趋势;两个六倍体材料的 SOD 活性均在 50 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫时升高,在 100 mmol · L⁻¹ 时降低,而在 200 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫时又升高。由此可见,虽然个体之间存在差异,但二倍体和六倍体叶片 SOD 活性的变化相似,二倍体对盐处理响应强烈,盐胁迫发生时能立即激活抗氧化酶的活性从而启动自我保护机制,四倍体能保持持续增大的 SOD 活性,但响应不

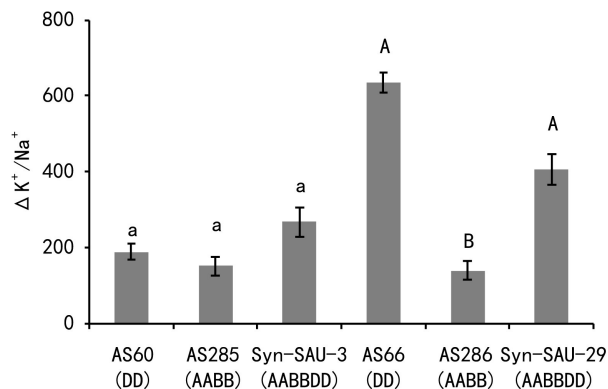


图 4 200 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫后不同倍性小麦幼苗中的 $\Delta K^+/Na^+$

Fig. 4 $\Delta K^+/Na^+$ in wheat seedlings after 200 mmol · L⁻¹ NaCl stress in different ploidies of wheat

激烈,对盐胁迫不敏感。

方差分析各材料 SOD 活性在各盐胁迫浓度和不同倍性水平下是否有差异,结果显示,SOD 活性在各胁迫浓度下均有极显著差异 ($F = 48.281, P < 0.01$), $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} (411.603) > 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} (409.39) > 200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} (398.875) > 0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} (310.884)$ 。因此,盐胁迫使小麦幼苗 SOD 活性升高,但随着浓度的加大,活性的变化趋于平缓,盐胁迫到一定浓度后,小麦为抵抗盐胁迫而作出的酶活反应便已经不再变化;SOD 活性在三种不同倍性间也均有显著差异 ($F = 33.643, P < 0.01$),且四倍体 (413.387) $>$ 六倍体 (389.852) $>$ 二倍体 (344.825)。

2.2.2 对三种倍性小麦 POD 活性的影响 图 6 为不同盐浓度胁迫下三种不同倍性小麦过氧化物酶 POD 活性 ($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$) 的变化。结果表明,POD 活性在各胁迫浓度下有显著差异 ($F = 3.601, P = 0.018 < 0.05$)。成对比较发现相较于 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 POD 活性显著升高;POD 活性在三种不同倍性间有极显著差异 ($F = 14.98, P < 0.01$),且六倍体 (133.434) $>$ 二倍体 (114.094) $>$ 四倍体 (101.646),两两比较显示六倍体分别与二倍体 ($P < 0.01$) 和四倍体 ($P < 0.01$) 之间存在极显著差异,六倍体的 POD 活性在各浓度盐胁迫下,显著高于二倍体和四倍体。从图 4 可看出,二倍体

和四倍体材料 POD 活性均在 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫时降低,然后在 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时升高。未施加盐胁迫时,两组实验中四倍体叶片 POD 活性均为最低,且随着盐胁迫浓度不断增大而逐渐升高,说明四倍体材料能持续升高 POD 活性来抵抗过氧化氢对细胞的毒害作用。

2.2.3 对三种倍性小麦 CAT 活性的影响 由图 7 可见,第一组实验中,二倍体 AS60 和六倍体 Syn-SAU-3 的 CAT 活性均在 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫时升高到峰值后随盐胁迫浓度的升高而逐渐降低,四倍体 AS285 的 CAT 活性均在 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫时显著降低。

第二组实验中,四倍体 AS286 和二倍体 AS66 在 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫浓度时达到峰值随后随浓度增加而逐渐降低,六倍体 Syn-SAU-29 的 CAT 活性在随盐胁迫浓度增加缓慢升高。结合 SOD 活性和 POD 活性的变化,可看出 $50 \sim 100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 是本研究中 6 个小麦材料的最佳耐受盐浓度,随着盐胁迫浓度增大,小麦组织内的抗氧化活性增强,当盐胁迫浓度超过这一范围,活性不再明显的增强。

方差分析显示,CAT 活性在各胁迫浓度 ($F = 8.302, P = < 0.01$) 和三种不同倍性间 ($F = 37.576, P = < 0.01$) 均有极显著差异;成对比较显示四倍体 (29.096) CAT 活性显著高于二倍体 ($11.531, P < 0.01$) 和六倍体 ($11.846, P < 0.01$),二倍体和六倍体之间无显著差异;两组实验在 $0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 处理时,四倍体均具有高于二倍体和六倍体的用以保护膜结构的 CAT 活性,自身对盐胁迫的耐受能力较强,当超过耐受的阈值时,防御系统被破坏而表现出保护酶活性急剧的降低。

2.2.4 对三种倍性小麦 MDA 含量的影响 从图 8 可看出,第一组实验中,随着盐胁迫浓度的升高,加剧细胞膜系统损伤的 MDA 在二倍体 AS60 叶片中的累积不断增加,并在 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫时达到峰值随后开始降低,在四倍体和六倍体先在 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫时降到最低值之后升高。

第二组实验中,随着盐胁迫浓度的升高,加剧细胞膜系统损伤的 MDA 在二倍体 AS66 叶片中的累积先降低,在 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫时达到最

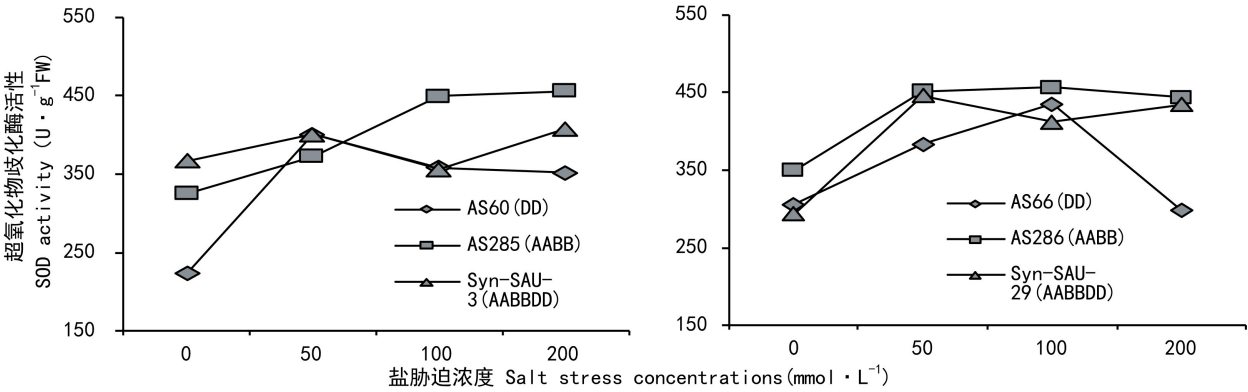


图 5 不同浓度盐胁迫对三种倍性小麦 SOD 活性的影响

Fig. 5 Effects of different salt stress concentrations on SOD activities in different ploidies of wheat

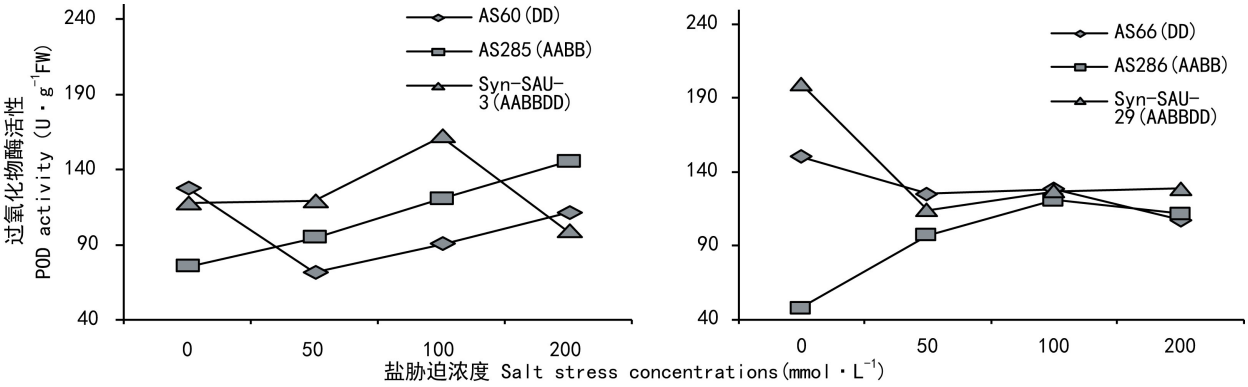


图 6 不同浓度盐胁迫对三种倍性小麦 POD 活性的影响

Fig. 6 Effects of different salt stress concentrations on POD activities in different ploidies of wheat

低值随后开始升高,在四倍体和六倍体中先在 50 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫时升到最高值后降低。

多因素方差分析表明,叶片中 MDA 含量在各胁迫浓度下无显著差异 ($F = 2.265, P = 0.09 > 0.05$),MDA 含量在三种不同倍性间有极显著差异 ($F = 5.178, P < 0.01$),两两比较显示六倍体叶片中 MDA 含量在各浓度盐胁迫下显著低于二倍体和四倍体,六倍体 (18.144) < 二倍体 (19.477) < 四倍体 (20.515)。

2.3 NaCl 胁迫对小麦脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白含量的影响

2.3.1 对三种倍性小麦脯氨酸含量的影响 由图 9

可见,不同浓度处理下脯氨酸含量随着盐胁迫浓度的增大均呈先升高后降低的趋势,50 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫时,脯氨酸迅速积累,除二倍体 AS60 外均达到峰值,AS60 在 100 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫时达到峰值,之后二倍体和六倍体材料中的脯氨酸均呈不同程度的降低,说明低浓度的盐胁迫使小麦材料迅速产生并积累脯氨酸来降低细胞渗透势,防止细胞脱水。四倍体也呈现出相似的现象:在 100 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫时降低而在 200 mmol · L⁻¹ NaCl 胁迫时再次升高的趋势。

方差分析结果表明,脯氨酸含量在各胁迫浓度下有极显著差异 ($F = 26.894, P < 0.01$),各倍性

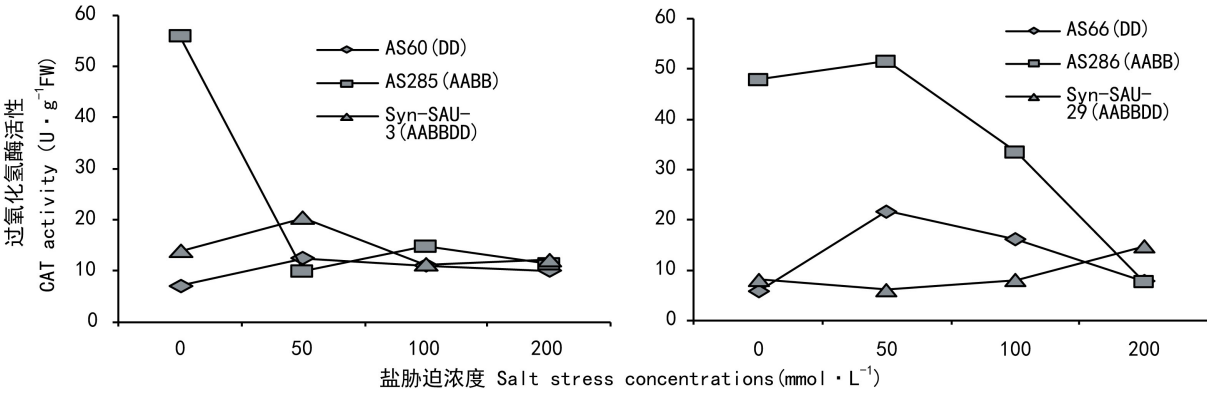


图 7 不同浓度盐胁迫对三种倍性小麦 CAT 活性的影响

Fig. 7 Effects of different salt stress concentrations on CAT activities in different ploidies of wheat

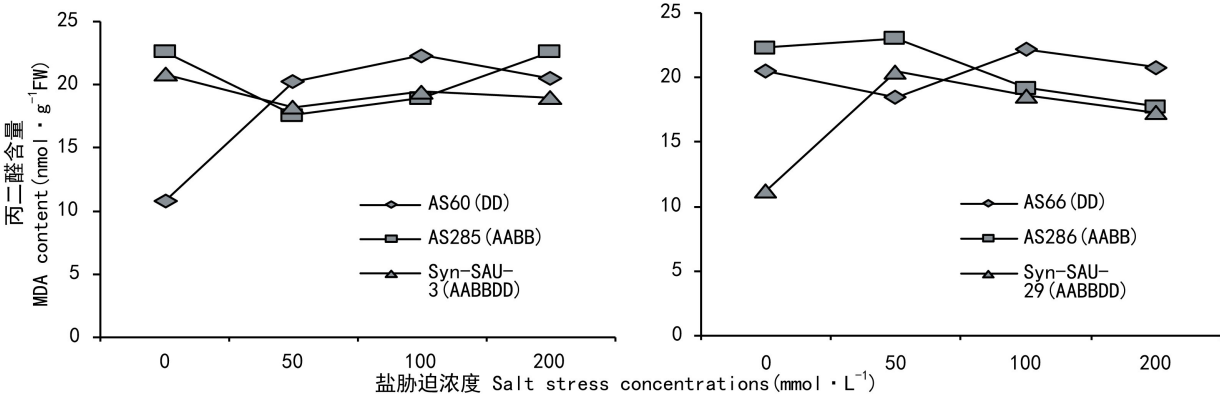


图 8 不同浓度盐胁迫对三种倍性小麦 MDA 含量的影响

Fig. 8 Effects of different salt stress concentrations on MDA contents in different ploidies of wheat

中,50 mmol · L⁻¹盐胁迫时的脯氨酸含量均显著高于其他浓度的盐胁迫;脯氨酸含量在三种不同倍性间均有极显著差异 ($F=91.24, P<0.01$),且四倍体脯氨酸含量 (108.102) 在各浓度盐胁迫下明显高于二倍体 (78.432) 和六倍体 (59.77)。

2.3.2 对三种倍性小麦可溶性糖含量的影响 可溶性糖含量在各胁迫浓度下有极显著差异 ($F=11.43, P<0.01$),且随盐胁迫浓度增大而逐渐降至最低,0 mmol · L⁻¹ (8.411) > 50 mmol · L⁻¹ (7.592) > 100 mmol · L⁻¹ (6.014) > 200 mmol · L⁻¹ (5.985);可溶性糖含量在三种不同倍性间有极显著差异 ($F=21.357, P<0.01$),但两两比较显示六倍体和二

倍体可溶性糖含量在各浓度盐胁迫下无显著差异,而四倍体的可溶性糖含量在各浓度盐胁迫下均极显著高于二倍体 ($P<0.01$) 和六倍体 ($P<0.01$) (图 10)。

2.3.3 对三种倍性小麦可溶性蛋白含量的影响 结果显示,各小麦材料可溶性蛋白含量在各胁迫浓度下有极显著差异 ($F=6.189, P<0.01$);可溶性蛋白含量在三种不同倍性的小麦材料间有极显著差异 ($F=39.781, P<0.01$),但两两比较显示六倍体和二倍体可溶性蛋白含量在各浓度盐胁迫下无显著差异 ($P=0.091>0.01$),而四倍体 (32.014) 的可溶性蛋白含量在各浓度盐胁迫下均极显著高

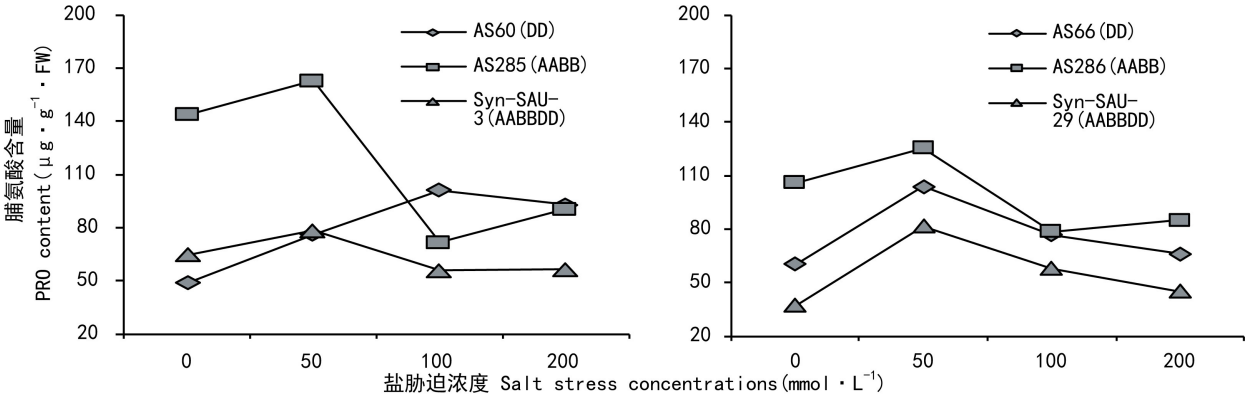


图 9 不同浓度盐胁迫对三种倍性小麦脯氨酸含量的影响

Fig. 9 Effects of different salt stress concentrations on the contents of proline in different ploidies of wheat

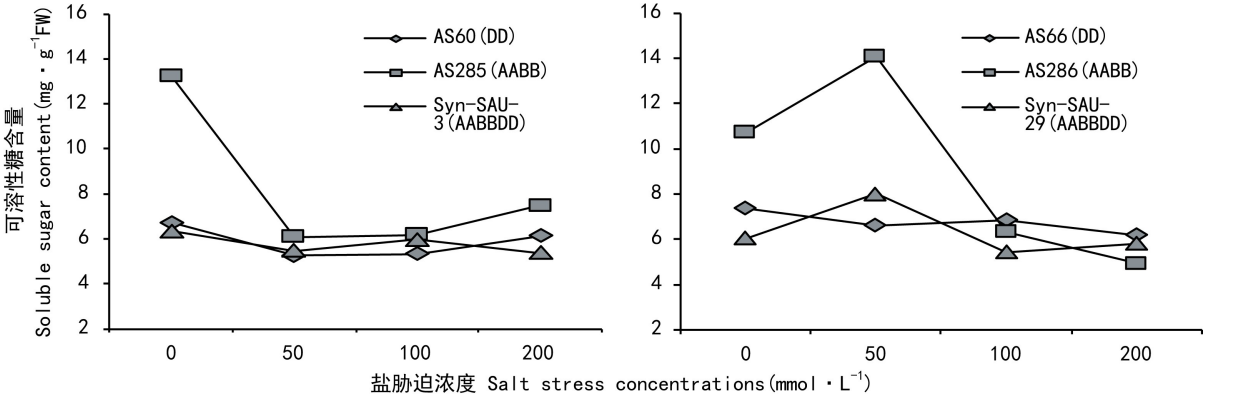


图 10 不同浓度盐胁迫对三种倍性小麦可溶性糖含量的影响

Fig. 10 Effects of different salt stress concentrations on the contents of soluble sugar in different ploidies of wheat

于六倍体 (20.551, $P < 0.01$) 和二倍体 (16.561, $P < 0.01$)。从图 10 和图 11 可以看出, 四倍体材料虽均具有较强的积累可溶性糖和可溶性蛋白的能力, 但低浓度的盐胁迫时, 含量急剧下降, 而二倍体和六倍体可溶性糖和可溶性蛋白含量在不同盐浓度下虽降低但相对稳定。

3 讨论

盐碱化生境中, 有害离子 Na^+ 会沿电化学势梯度被动运输至作物体内, 作物吸收过量的 Na^+ 而使 K^+ 、 Ca^{2+} 等元素的吸收受到抑制, 从而破坏了细胞

内的离子稳态, 引起生物膜功能紊乱, 抑制许多胞质酶的活性和细胞代谢, 引起作物的生长发育障碍 (于海霞和田纪春, 2008)。小麦可以通过减少 K^+ 流失, 增加 K^+ 吸收来保持较高的 K^+ 相对含量 (朱红菊等, 2014), 也可以通过减少盐分吸收、阻止盐分向地上部分运输, 或在细胞水平上将 Na^+ 区隔在液泡中来实现胞质内的低 Na^+ 浓度。因此, 一般认为地上部分积累 Na^+ 少, 且 K^+/Na^+ 比值高的小麦品种耐盐力强 (许兴等, 2002; 宋旻等, 2011)。

本研究中, 小麦材料茎叶中 K^+ 、 Na^+ 含量在盐胁迫下均发生明显变化, 两个亲缘关系组合中的四倍体在 $0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐处理时

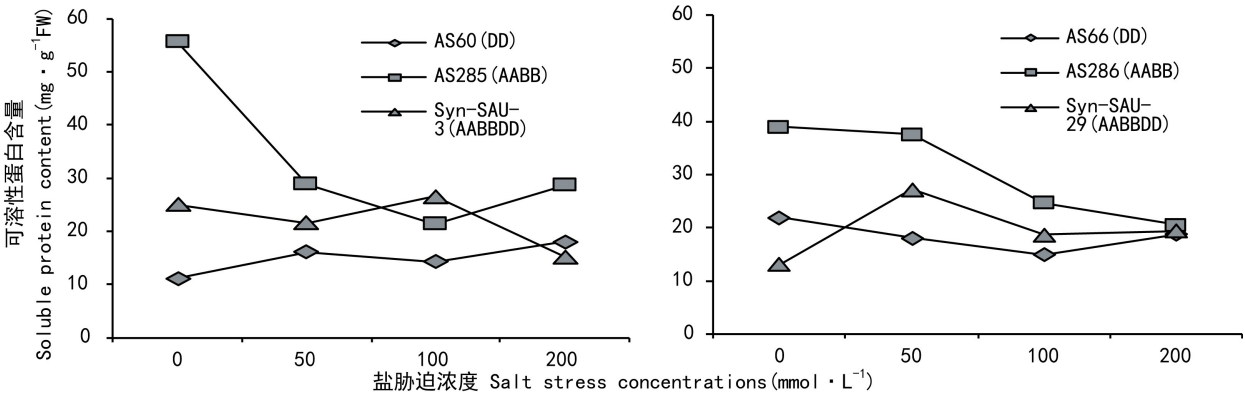


图 11 不同浓度盐胁迫对三种倍性小麦可溶性蛋白含量的影响

Fig. 11 Effects of different salt stress concentrations on the contents of soluble protein in different ploidies of wheat

均表现出最低的 K^+ 含量,以及在 0 mmol · L⁻¹ 盐处理时最高的 Na^+ 含量,这说明四倍体材料具有较弱的盐胁迫适应性。而两个组合中的二倍体在 0 mmol · L⁻¹ 和 200 mmol · L⁻¹ 盐处理时均表现出最高的 K^+ 含量以及最低的 Na^+ 含量,在各倍性中拥有较高的 K^+/Na^+ 比值,这说明二倍体材料具有较强的盐胁迫适应性, Yang et al (2014) 在实验中也证实有用 DD 染色体组的二倍体节节麦亲本具有更强的将 Na^+ 保留在根中的能力。六倍体在积累 K^+ 的能力上也表现出一定的优势,但其在盐胁迫下 Na^+ 含量高。染色体组为 DD 的二倍体和染色体组为 AABBDD 的杂交后代六倍体较染色体组为 AABB 的四倍体具有更强的盐胁迫适应性,这一点暗示小麦 DD 染色体组上可能具有胁迫应答基因,前人的实验也分别证实了盐胁迫诱导合成的六倍体小麦 D 亚基因组家族表达增强 (Yang et al, 2014) 以及决定小麦叶片 K^+/Na^+ 比值的基因位于 4D 染色体的长臂上 (Gorham et al, 1987)。同时,实验材料中的二倍体 AS66 的 K^+/Na^+ 显著高于其他材料,盐胁迫时, K^+/Na^+ 的变化也最剧烈,说明不同基因型二倍体材料之间存在差异,为进一步的相关研究提供了材料。

植物在盐胁迫下会产生大量的活性氧,包括羟自由基、超氧阴离子和 H_2O_2 等,会对细胞造成损伤,如氧化性很强的羟自由基会引发或加剧膜脂过氧化产生丙二醛 MDA,MDA 作为膜脂过氧化

最重要的产物之一,它的产生能加剧细胞膜系统损伤,使膜透性增高。SOD、CAT 和 POD 是植物酶促反应体系的抗氧化保护酶类,它们协同作用清除活性氧,尽可能地减少活性氧的积累,减轻膜脂过氧化,保护膜系统的稳定性,以减轻盐胁迫对植物细胞的伤害 (王川等, 2011; 张金林等, 2015)。本实验中,四倍体材料 MDA 累积的量显著高于二、六倍体,而实验结果显示盐胁迫后四倍体 SOD 和 CAT 等酶的活性也显著高于二倍体和六倍体;六个材料的 MDA 含量除四倍体 AS285 以外均在 50 或 100 mmol · L⁻¹ 升高到峰值随即开始降低, AS285 的 MDA 含量持续升高;除四倍体材料的 SOD 活性在盐胁迫下会持续增强以外,其他材料的 SOD 等酶活性均在 50 或 100 mmol · L⁻¹ 盐处理时升高到一定值之后便保持稳定。本研究中为了避免盐激反应, NaCl 处理按每天 50 mmol · L⁻¹ 的浓度逐步递增至终浓度并保持 48 h。实验发现在 200 mmol · L⁻¹ 盐浓度的处理下,各小麦材料中的 MDA 含量会降低以及 SOD 等酶活性不再增强。四倍体材料受到盐胁迫时, MDA 累积量显著高于二、六倍体,说明它们的膜脂过氧化程度较高,其 SOD 活性随盐胁迫浓度增大持续升高并在 200 mmol · L⁻¹ 时达到峰值。

盐胁迫下渗透调节能力的增加与各种渗透调节物质的主动积累是分不开的。其中,游离脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白对小麦渗透调节能力

的维持起着主要作用。脯氨酸积累也是植物体抵抗渗透胁迫的有效方式之一(Shan et al, 1987),许多植物在盐胁迫下脯氨酸迅速积累,脯氨酸积累能够降低叶片细胞的渗透势,防止细胞脱水;脯氨酸具有很高的水溶性,可以保护细胞膜系统,维持细胞内酶的结构,减少细胞内蛋白质的降解(苏丹等, 2016)。植物中可溶性糖不仅是细胞的组成物质和能量来源,也是其生长发育过程中重要的调节因子。盐胁迫下,耐盐性强的小麦品种可溶性糖含量始终高于耐盐性弱的品种。可溶性蛋白是植物体内重要的渗透调节物质,其含量的增加有利于提高细胞的渗透调节能力,可以增加细胞的渗透势,从而使植物叶片保持较高的相对含水量,同时可提高功能蛋白的数量,有助于维持细胞正常的代谢,在一定程度上缓解逆境对植物的伤害,提高植物的抗盐胁迫(Schachtman et al, 1992)。本研究四倍体材料在 $0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐处理时脯氨酸含量、可溶性糖和可溶性蛋白含量均显著高于二倍体和六倍体。同时,实验中的各小麦材料在盐胁迫后均表现出渗透调节物质的降低,说明盐胁迫对小麦体内的渗透调节产生明显影响。其中,各倍性小麦材料脯氨酸的含量均在 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐处理时达到最大值,而后随胁迫浓度增大而降低。第一个实验组中,所有材料体内的可溶性糖和可溶性蛋白含量均随盐胁迫浓度增大持续下降,第二个实验组中的四倍体(除 AS286)和六倍体小麦的可溶性糖和可溶性蛋白含量均在 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐处理时升高到峰值后降低。

本研究中,二倍体表现出显著的低 Na^+ 高 K^+ 和较高的 K^+/Na^+ , NaCl 胁迫时离子含量变化大,对盐胁迫的适应性更强。四倍体材料虽然表现出较低的 K^+/Na^+ , 但是其在盐胁迫下能保持较高的抗氧化酶活性并且能积累较多的渗透物质,这可能是四倍体材料对 Na^+ 积累较多所引起毒害的生理调节。六倍体材料 K^+ 含量、 K^+/Na^+ 虽弱于二倍体但高于四倍体,脯氨酸和可溶性蛋白含量虽低于四倍体但高于二倍体,POD 活性最强,破坏细胞膜的膜脂过氧化产物 MDA 含量最低。

综上所述,含有 DD 染色体组的二倍体小麦在盐胁迫下可能主要通过调节 K^+/Na^+ 来适应盐胁

迫,而含有 AABB 染色体组的四倍体小麦则主要通过累积渗透调节物质和调节抗氧化酶活性来适应盐胁迫。目前,有理论证明保留了双亲基因的多倍体,由于有利性状的遗传,其功能也更为多样化(Adams & Wendel, 2005)。本研究中作为二者远源杂种后代的六倍体小麦由于整合了 AABB 和 DD 染色体组,表现出了综合的耐盐适应性机制,相较于两亲本耐盐性可能更加广泛。

参考文献:

- ADAMS KL, WENDEL JF, 2005. Polyploidy and genome evolution in plants [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 8(2):135.
- GORHAM J, HARDY C, WYN JONES RG, et al, 1987. Chromosomal location of a K/Na discrimination character in the D genome of wheat. [J]. *Theoret Appl Gen*, 74(5): 584-588.
- HE Y, LI ZG, LI XP, et al, 2005. Responses of the growth and the protective enzymes activities in two genotypic wheats under salt stress [J]. *J Shanxi Agric Univ*, 25(1):42-44. [贺岩,李志岗,李新鹏,等, 2005. 盐胁迫条件下两种基因型小麦生长及保护酶活性的反应 [J]. *山西农业大学学报*, 25(1):42-44.]
- LIU B, HAO S, 2007. Epigenetic variation associated with plant wide hybridization and polyploidy [J]. *J Agric Sci Technol*, 9(6):18-21. [刘宝,郝水, 2007. 植物远缘杂交和多倍体化中的表观遗传变异 [J]. *中国农业科技导报*, 9(6): 18-21.]
- LIU FQ, LIU JL, ZHU RF, et al, 2015. Physiological responses and tolerance of four oat varieties to salt stress [J]. *Acta Pratac Sin*, 24(1):183-189. [刘凤歧,刘杰淋,朱瑞芬,等, 2015. 4 种燕麦对 NaCl 胁迫的生理响应及耐盐性评价 [J]. *草业学报*, 24(1):183-189.]
- LI HS, 2000. Principle and technology of plant physiological and biochemical experiments [M]. Beijing: Higher Education Press:121-123. [李合生, 2000. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京高等教育出版社:121-123.]
- LU JH, LÜ X, LIANG YC, et al, 2013. Salt tolerance of Glycyrrhiza in flata seedlings in Xinjiang and its ion response to salt stress [J]. *Chin J Plant Ecol*, 37(9):839-850. [陆嘉惠,吕新,梁永超,等, 2013. 新疆胀果甘草幼苗耐盐性及对 NaCl 胁迫的离子响应 [J]. *植物生态学报*, 37(9):839-850.]
- MENG XH, LIN Q, ZHANG YM, et al, 2014. Effects of salt stress on germination of wheat and screening of salt tolerance indices [J]. *Acta Agric Boreal-Sin*, 29(4):175-180. [孟祥浩,林琪,张玉梅,等, 2014. 盐胁迫对小麦萌发的影响及耐盐指标的筛选 [J]. *华北农学报*, 29(4): 175-180.]

- OSBORN TC, 2003. Understanding mechanisms of novel gene expression in polyploids [J]. Trends Genet, 19:141-147.
- SCHACHTMAN DP, LAGUDAH ES, MUNNS R, 1992. The expression of salt tolerance from *Triticum tauschii* in hexaploid wheat [J]. Theor Appl Gen, 84: 714-719.
- SHAH SH, GORHAM J, FORSTER BP, et al, 1987. Salt tolerance in the Triticinae: the contribution of the D genome to cation selectivity in hexaploid wheat [J]. J Exper Bot, 38 (187):254-269.
- SONG Y, PEI DL, 2011. Effect of salt stress on peroxidase and isoenzyme in wheat seedlings [J]. Hubei Agric Sci, 50(9): 1759-1761. [宋旸, 裴冬丽, 2011. 盐胁迫对小麦幼苗 POD 活性和同工酶的影响 [J]. 湖北农业科学, 50(9): 1759-1761.]
- SU D, LI HL, DONG Z, et al, 2016. Effects of salt stress on activities of antioxidant enzymes and MDA of elm clones [J]. Sci Soil Water Conserv, 14(2):9-16. [苏丹, 李红丽, 董智, 等, 2016. 盐胁迫对白榆无性系抗氧化酶活性及丙二醛的影响 [J]. 中国水土保持科学, 14(2):9-16.]
- WANG C, XIE HM, WANG N, et al, 2011. Study on the relation of soluble sugar, protective enzyme and drought resistance in wheat [J]. Agric Res Arid Area, 29(5):94-99. [王川, 谢慧民, 王娜, 等, 2011. 小麦品种可溶性糖和保护性酶与抗旱性关系研究 [J]. 干旱地区农业研究, 29(5):94-99.]
- WANG T, CHEN ML, LIU L, et al, 2015. Changes in genome and gene expression during plant polyploidization [J]. Chin Bull Bot, 50(4):504-515. [王涛, 陈孟龙, 刘玲, 等, 2015. 植物多倍体化中基因组和基因表达的变化 [J]. 植物学报, 50(4):504-515.]
- XU X, ZHENG GQ, DENG XP, et al, 2002. Comparative study of drought and salt resistance of different genotypical triticeinae [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 22(5):1122-1135. [许兴, 郑国琦, 邓西平, 等, 2002. 不同基因型小麦幼苗抗旱抗盐性比较研究 [J]. 西北植物学报, 22(5): 1122-1135.]
- YANG C, ZHAO L, ZHANG H, et al, 2014. Evolution of physiological responses to salt stress in hexaploid wheat [J]. Proceed Nat Acad Sci USA, 111(32):11882.
- YANG J, 2001. The formation and evolution of polyploid genomes in plants [J]. Acta Phytotax Sin, 39(4):357-371. [杨继, 2001. 植物多倍体基因组的形成与进化 [J]. 植物分类学报, 39(4):357-371.]
- YOSHIBA Y, KIYOSUE T, NAKASHIMA K, et al, 1997. Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. [J]. Plant Cell Physiol, 38(10):1095-1102.
- YU HX, TIAN JC, 2008. Review of Genome B in *T. aestivum* L. [J]. Mol Plant Breed, 6(4):724-732. [于海霞, 田纪春, 2008. 普通小麦 B 基因组的研究进展 [J]. 分子植物育种, 6(4):724-732.]
- ZHANG HN, LI XJ, LI CD, 2008. Effects of overexpression of wheat superoxide dismutase (sod) genes on salt tolerant capability in tobacco [J]. Acta Agron Sin, 34(8):1403-1408. [张海娜, 李小娟, 李存东, 2008. 过量表达小麦超氧化物歧化酶(SOD)基因对烟草耐盐能力的影响 [J]. 作物学报, 34(8):1403-1408.]
- ZHANG JL, LI HR, GUO SY, et al, 2015. Research advances in higher plant adaption to salt stress [J]. Acta Pratac Sin, 24(12):220-236. [张金林, 李惠茹, 郭姝媛, 等, 2015. 高等植物适应盐逆境研究进展 [J]. 草业学报, 24(12):220-236.]
- ZHANG L, LUO J, CHEN W, et al, 2011. Synthesizing double haploid hexaploid wheat populations based on a spontaneous allopoloidization process [J]. J Gene Geno, 38:89-94.
- ZHANG M, CAI RG, HAN JL, et al, 2010. Effects of salt stress on the activities of antioxidant enzymes in wheat seedlings [J]. J Hebei Norm Univ Sci Technol, 24(3):15-27. [张敏, 蔡瑞国, 韩金玲, 等, 2010. 盐胁迫对小麦萌发期幼苗抗氧化酶系统的影响 [J]. 河北科技师范学院学报, 24(3):15-27.]
- ZHANG ZQ, 1980. The determination of soluble sugar in plant material [C]// Shanghai academy plant physiology. Manual plant physiology experiment. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press:134-138. [张振清, 1980. 植物材料中可溶性糖的测定 [C]//上海植物生理学会编. 植物生理学实验手册. 上海:上海科学技术出版社:134-138.]
- ZHAO KF, LI FZ, 1999. Chinese Halophytes [M]. Beijing: Science Press. [赵可夫, 李法曾, 1999. 中国盐生植物 [M]. 北京: 科学出版社.]
- ZHENG SY, SHANG XF, WANG JP, 2010. Determination of antioxidant enzyme activity and contents of MDA in maize seedlings under salt stress with visible spectrophotometry [J]. Biotechnol Bull, 7(24):106-109. [郑世英, 商学芳, 王景平, 2010. 可见分光光度法测定盐胁迫下玉米幼苗抗氧化酶活性及丙二醛含量 [J]. 生物技术通报, 7(24):106-109.]
- ZHU HJ, LIU WG, ZHAO SJ, et al, 2014. Effects of NaCl stress on mass fractions of Na^+ , K^+ and Ca^{2+} in different ploidy watermelon seedlings [J]. Acta Agric Boreal-Occident Sin(3):151-158. [朱红菊, 刘文革, 赵胜杰等, 2014. NaCl 胁迫对不同倍性西瓜幼苗 Na^+ 、 K^+ 和 Ca^{2+} 质量分数的影响 [J]. 西北农业学报(3):151-158.]
- ZHU GL, DENG XW, ZUO WN, 1983. The determination of free proline in plants [J]. Acta Phytophysiol Sin(1):37-39. [朱广廉, 邓兴旺, 左卫能, 1983. 植物体内游离脯氨酸的测定 [J]. 植物生理学报(1):37-39.]