

# PEG 预处理对盐及镉胁迫下黑麦草生理代谢的影响

鲜靖苹<sup>1,2</sup>, 王勇<sup>2</sup>, 张家洋<sup>1</sup>

(1. 新乡学院生命科学技术学院, 河南 新乡 453000; 2. 甘肃农业大学草业学院, 草业生态系统教育部重点实验室, 甘肃省草业工程实验室, 中—美草地畜牧业可持续发展研究中心, 兰州 730070)

**摘要:** 为了探讨 PEG 预处理对盐胁迫和镉胁迫下多年生黑麦草幼苗生理特性的影响, 将黑麦草幼苗分别用 0, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% (对应水势分别为 0, -0.05, -0.15, -0.30, -0.50, -0.77 MPa) 的 PEG-6000 营养液进行预处理后, 分别用含 150 mmol/L NaCl 和 Cd<sup>2+</sup> 浓度为 10 mg/L 的胁迫液培养, 然后测定黑麦草幼苗叶片的光合色素含量、MDA 含量、游离脯氨酸含量、可溶性糖含量及抗氧化酶(SOD、POD、CAT、APX)活性。结果表明: 盐胁迫下 15% (-0.30 MPa) PEG 预处理和镉胁迫下 10% (-0.15 MPa) PEG 预处理可以有效提高多年生黑麦草的光合色素含量, 降低 MDA、游离脯氨酸含量, 增加可溶性糖含量, 提高抗氧化酶活性。PEG 预处理下多年生黑麦草在遭受逆境胁迫时, 受到多种生理生化的调节, 其生理指标的动态变化是黑麦草应答逆境因子胁迫的重要调节机制, 体现了其对逆境胁迫的适应能力以及在多种逆境胁迫下的交叉适应能力。

**关键词:** PEG 预处理; 镉胁迫; 盐胁迫

**中图分类号:** S812.5

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1009-2242(2019)03-0358-07

**DOI:** 10.13870/j.cnki.stbcxb.2019.03.052

## Effects of PEG Pretreatment on Physiological Metabolism of *Lolium perenne* Under Salt and Cadmium Stress

XIAN Jingping<sup>1,2</sup>, WANG Yong<sup>2</sup>, ZHANG Jiayang<sup>1</sup>

(1. School of Life Science and Technology, Xinxiang University, Xinxiang, Henan 453000; 2. Key Laboratory of Pratacultural Ecosystem, Ministry of Education, Gansu Pratacultural Engineering Laboratory, Sino-U. S. Enter for Grazingland Ecosystem Sustainability, College of Pratacultural, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070)

**Abstract:** Sand culture experiment were carried out to study the effects of PEG pretreatment on physiological characteristics of *Lolium perenne* seedlings under salt stress and cadmium stress. The experimental seedlings were dealt with 0%, 5%, 10%, 15%, 20% and 25% (the corresponding water potential was 0, -0.05, -0.15, -0.30, -0.50 and -0.77 MPa, respectively) PEG-6000 pretreatment nutrient solutions, respectively, and then the seedlings were cultured separately by stress solutions containing 150 mmol/L NaCl and 10 mg/L Cd<sup>2+</sup>, respectively. Then the leaf chlorophyll(Chl) content, activities of antioxidant enzyme (such as catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), guaiacol peroxidase (POD) and ascorbate peroxidase (APX)), contents of osmoregulation substances, such as proline, soluble sugar and malondialdehyde (MDA) in leaves were determined. The test results showed that the 15% (-0.30 MPa) PEG pretreatment under the salt stress and the 10% (-0.15 MPa) PEG pretreatment under the Cd<sup>2+</sup> stress could effectively increase the leaf chlorophyll contents of *L. perenne* seedlings, reduce the contents of MDA and proline, increase the content of soluble sugar and increase the activities of antioxidant enzymes. The above results showed that the *L. perenne* dealt by PEG pretreatment under stress was regulated by various physiological and biochemical factors. The dynamic changes of physiological indexes were important regulatory mechanisms for *L. perenne* in response to stress, which reflected its adaptability to stress and its cross-adaptation ability under various stresses.

**Keywords:** PEG pretreatment; cadmium stress; salt stress

收稿日期: 2018-12-13

资助项目: 河南省高等学校重点科研项目(19A180025); 甘肃农业大学科技创新基金(学科建设基金)项目(GAU-XKJS-2018-018); 国家大学生创新创业计划训练项目(201710733007)

第一作者: 鲜靖苹(1979-), 女, 甘肃通渭人, 讲师, 博士研究生, 主要从事重金属污染的植物修复研究。E-mail: 63386780@qq.com

通信作者: 鲜靖苹(1979-), 女, 甘肃通渭人, 讲师, 博士研究生, 主要从事重金属污染的植物修复研究。E-mail: 63386780@qq.com

随着工业发展和人类活动的加剧,盐害成为农业生产和生态环境的一个重要非生物逆境之一<sup>[1]</sup>,据不完全统计,世界上有 10 亿  $\text{hm}^2$  的土地正受到盐的危害<sup>[2]</sup>,盐碱化土壤约占全球可耕地面积的 10%,我国约有 0.2 亿多  $\text{hm}^2$  盐碱地<sup>[3]</sup>,人类活动的干预使次生盐碱化日益加重,给农业生产造成重大损失。工矿“三废”的排放和农药化肥的过量使用,同样造成了土壤中有毒重金属过量积累,其中重金属镉的生物毒性大、易被植物累积吸收、迁移性强,给环境和人类健康带来了巨大风险<sup>[4]</sup>。有研究<sup>[5-10]</sup>表明,利用聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 对植物种子、幼苗进行预处理,能提高植物种子萌发期的活力,增强植物的抗逆性。比如低渗透势 PEG 引发燕麦老化种子,可提高其发芽率、促进根生长。低浓度的 PEG 预处理能够提高驼绒藜 (*Ceratoides latens*)、碱蓬 (*Suaeda glauca*)<sup>[6]</sup>、籽粒苋 (*Amaranthus hypochondriacus*)、1 年生黑麦草 (*Lolium multiflorum*)、大麦 (*Hordeum vulgare*)、二月兰 (*Orychophragmus violaceus*)、沙打旺 (*Astragalus adsurgens*)<sup>[7]</sup>、羊草 (*Leymus chinensis*)<sup>[8]</sup> 等植物种子的萌发率。PEG 预处理可促进高丹草 (*Sorghum hybrid sudangrass*) 抗旱指数<sup>[9]</sup>,有效提高早熟禾“Brilliant”的耐热性<sup>[10]</sup>,增强了水稻幼苗的耐盐能力<sup>[11]</sup>和抗旱能力<sup>[12]</sup>。

多年生黑麦草 (*Lolium perenne*) 属于冷季型草坪草,生长迅速、覆盖力强、抗病虫害,其对高温、严寒和干旱环境都有一定的适应性<sup>[13]</sup>,是一种对镉污染环境具有潜在修复能力的植物<sup>[14-17]</sup>,广泛应用于我国北方城市绿地及运动场草坪建植中。但当生长环境盐分过高时,生长明显受到抑制<sup>[18]</sup>。从现有研究可以看出,有关 PEG 预处理对黑麦草幼苗耐盐性和耐镉能力的影响鲜有报道。本试验对 PEG 预处理下黑麦草幼苗进行盐胁迫和镉胁迫,试图从生理角度探讨 PEG 对黑麦草耐盐性和耐镉性的影响,以期 PEG 预处理在草坪草抗盐、耐镉以及抵抗其他非生物胁迫方面提供参考;为黑麦草对镉污染土壤的植物修复提供相关理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本试验以北京克劳沃草业技术开发公司提供的多年生黑麦草“Premier”为试验材料,于甘肃农业大学草业学院实验室完成。

### 1.2 试验设计

1.2.1 幼苗的培养 2017 年 9 月 10 日,选择籽粒饱满均匀、成熟健康且无病虫害的多年生黑麦草“Premier”种子,用 20%  $\text{NaClO}$  溶液浸泡 30 min,再用去离子水冲洗数次,晾干水分。将处理后的种子直接播入以蛭石为

基床、直径 10 cm 育苗钵中,按韩建国等<sup>[19]</sup>的方法萌发,用 Hoagland 完全营养液培养,5 天更换 1 次。培养 2 周后,进行 PEG 预处理和胁迫处理。

1.2.2 PEG-6000 溶液预处理 2017 年 9 月 24 日,先用 0.5%, 10%, 15%, 20%, 25% (对应水势分别为 0, -0.05, -0.15, -0.30, -0.50, -0.77 MPa) 的 PEG 营养液培养 3 天,再用完全营养液培养 3 天 (复水处理)。

1.2.3 盐胁迫和镉胁迫处理 2017 年 9 月 30 日,将经过预处理的培养材料分为 2 组:盐胁迫组和镉胁迫组。盐胁迫组:用含 150 mmol/L  $\text{NaCl}$  的营养液胁迫培养 3 天;镉胁迫组:用  $\text{Cd}^{2+}$  浓度为 10 mg/L 的营养液胁迫 3 天,  $\text{Cd}^{2+}$  由  $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$  (分析纯) 提供。

### 1.3 测定指标与方法

以上胁迫分为 2 组,完全营养液培养作为对照,均设置 3 次重复,2017 年 10 月 3 日,取新鲜叶片测定相关生理指标。乙醇浸提法<sup>[20]</sup>测定叶绿素 (chlorophyll, CHL);硫代巴比妥酸法<sup>[20]</sup>测定丙二醛 (malonaldehyde, MDA);蒽酮法<sup>[20]</sup>测定可溶性糖;酸性茚三酮法<sup>[20]</sup>测定游离脯氨酸 (proline, Pro);氮蓝四唑法<sup>[21]</sup>测定超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD);愈创木酚法<sup>[21]</sup>测定过氧化物酶 (peroxidase, POD);紫外分光光度法<sup>[21]</sup>测定过氧化氢酶 (catalase, CAT);参考 Nakano 等<sup>[22]</sup>的方法测定抗坏血酸过氧化物酶 (ascorbate peroxidase, APX)。

### 1.4 数据统计分析

采用 Excel 2010 软件绘制图表并进行回归分析,运用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 PEG 预处理对盐胁迫下多年生黑麦草幼苗生理生化响应的影响

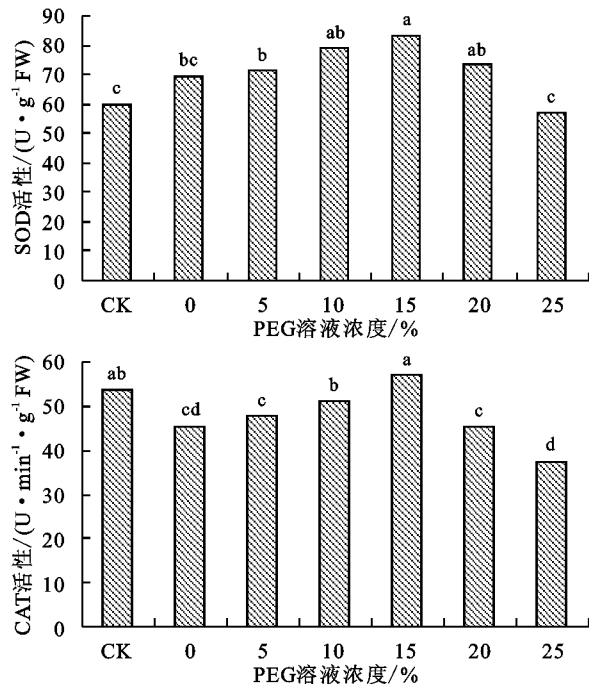
由表 1 可知,没有 PEG 预处理时,盐胁迫降低了多年生黑麦草的叶绿素含量,相比对照降低 13.8%。PEG 预处理下,多年生黑麦草的叶绿素含量随着 PEG 的浓度的增加,呈现了先升高后下降的趋势,5%~20% (-0.50~-0.05 MPa) 的 PEG 预处理的幼苗在盐胁迫下,叶绿素含量相比对照都有不同程度的升高,在 15% (-0.30 MPa) 的 PEG 预处理浓度下,叶绿素含量达到了最大值,比未经过预处理的胁迫组幼苗的叶绿素含量增加了 32.6%,而当预处理 PEG 浓度达到 25% (-0.77 MPa),叶绿素含量比未经预处理的胁迫组降低了 7.2%,表明低浓度的 PEG (-0.05, -0.15 MPa) 预处理对盐胁迫下黑麦草幼苗叶绿素含量的降低有明显的缓解效果,而高浓度 PEG (-0.77 MPa) 预处理没有缓解效果,反而加重胁迫。

表 1 PEG 预处理对 NaCl 胁迫下黑麦草幼苗  
叶绿素含量的影响 单位:mg/g

处理	叶绿素 a 含量	叶绿素 b 含量	总叶绿素含量
CK	21.36±0.67bc	7.86±0.51b	29.22±0.63bc
NaCl	18.84±0.30c	6.34±0.50c	25.18±0.42de
NaCl-PEG 5%	22.65±0.60b	7.07±0.61b	29.72±0.76bc
NaCl-PEG 10%	24.95±0.46a	8.79±0.17a	30.74±0.55b
NaCl-PEG 15%	22.15±0.44b	8.94±0.97a	33.39±0.89a
NaCl-PEG 20%	17.17±0.98cd	6.61±0.32c	26.79±0.72d
NaCl-PEG 25%	13.68±0.34e	5.69±0.59d	23.37±0.46e

注:表中数据为平均值±标准误差;同列不同小写字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ )。下同。

由表 2 可知,盐胁迫组多年生黑麦草的游离脯氨酸含量明显升高,而 PEG 预处理组的游离脯氨酸含量随着 PEG 浓度的升高呈现先降后升的趋势,15%(-0.30 MPa)的预处理下,游离脯氨酸含量相比胁迫对照组降幅最大,比对照下降 17.5%,PEG 预处理浓度达到 25%(-0.77 MPa),游离脯氨酸含量显著升高。5%(-0.05 MPa)PEG 预处理对盐胁迫下多年生黑麦草可溶性糖含量几乎没有影响,而 10%~20%(-0.50~-0.15 MPa)PEG 预处理下,可溶性糖含量相对胁迫组明显升高,在 PEG 浓度达到 15%(-0.30 MPa)时,达到最大值。PEG 预处理组 MDA 含量较未预处理组均有明显的下降,PEG 浓度在 15%(-0.30 MPa)时,MDA 含量最低,PEG 预处理浓度达到 25%(-0.77 MPa),MDA 含量较对照



注:图中不同小写字母表示各处理  $P<0.05$  水平差异显著。下同。

图 1 PEG 预处理 NaCl 胁迫下多年生黑麦草叶片抗氧化酶活性的变化

## 2.2 PEG 预处理对镉胁迫下多年生黑麦草幼苗生理生化响应的影响

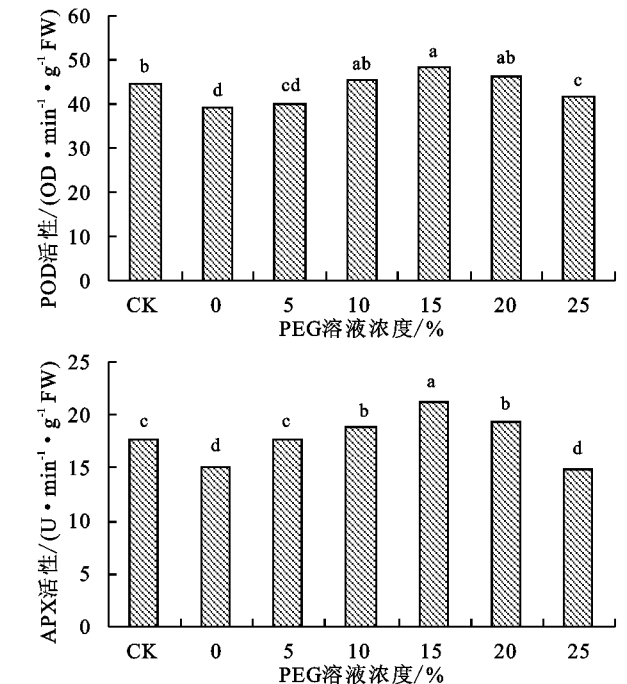
由表 3、表 4 可知,未经 PEG 预处理的多年生黑

组升高。由此可见,PEG 预处理下黑麦草幼苗通过降低脯氨酸、MDA 含量和升高可溶性糖含量来缓解盐胁迫,15%PEG 预处理缓解效果最为显著。

表 2 PEG 预处理对 NaCl 胁迫下黑麦草叶片可溶性糖、游离脯氨酸含量及 MDA 含量的影响

处理	可溶性糖含量/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	游离脯氨酸含量/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	MDA 含量/ ( $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ )
CK	109.80±4.95cd	44.88±1.34d	5.51±0.13d
NaCl	99.31±2.38d	49.65±2.18b	7.62±0.32b
NaCl-PEG 5%	132.39±3.06b	49.77±4.67b	6.85±0.13c
NaCl-PEG 10%	144.45±3.50ab	46.58±3.16cd	6.19±0.12c
NaCl-PEG 15%	148.57±2.90a	40.99±3.53e	5.77±0.28d
NaCl-PEG 20%	112.47±1.84c	47.16±3.37c	7.12±0.19b
NaCl-PEG 25%	86.28±1.82e	54.35±3.56a	8.27±0.15a

由图 1 可知,盐胁迫下,多年生黑麦草的 SOD 含量比对照增加了 15.7%,而 POD、CAT、APX 活性均比对照有所下降。5%~20%(-0.50~-0.05 MPa)PEG 预处理下,SOD、POD、CAT、APX 活性相比盐胁迫未预处理组均有不同程度的增加,在 PEG 处理浓度 15%(-0.30 MPa)增加最为显著,SOD、POD、CAT、APX 活性相比对照分别增加了 20.4%,24.0%,26.6%,39.6%,表明一定浓度的 PEG 预处理可以提高多年生黑麦草幼苗叶片抗氧化酶活性,增强盐耐受能力。而当 PEG 浓度增加到 25%(-0.77 MPa),多年生黑麦草的 SOD、POD、CAT、APX 活性均比对照出现下降趋势。



麦草在 10 mg/L 浓度的镉胁迫下,叶绿素含量和可溶性糖含量显著降低,分别降低了 21.2%和 10.4%。PEG 预处理下,多年生黑麦草在受到 10 mg/L 浓度

的镉胁迫时,叶绿素含量和可溶性糖含量均比未经 PEG 预处理的对照组有所升高,在 PEG 浓度达到 10%(-0.15 MPa)时,升高最为显著,分别比对照增加了 34.6%和 21.0%。当浓度达到 25%(-0.77 MPa),叶绿素含量和可溶性糖含量均出现比对照组下降的趋势。低浓度的 PEG(-0.05, -0.15 MPa) 预处理对镉胁迫下黑麦草幼苗可溶性糖含量的降低有明显的缓解效果,而高浓度 PEG(-0.77 MPa) 预处理和镉胁迫会产生叠加效果。

表 3 PEG 预处理对 Cd 胁迫下黑麦草幼苗叶绿素含量的影响

单位:mg/g			
处理	叶绿素 a 含量	叶绿素 b 含量	总叶绿素含量
CK	18.52±0.34a	6.03±0.10a	24.54±0.52b
Cd	16.22±0.44c	5.13±0.11b	19.34±0.45de
Cd-PEG 5%	17.93±0.55b	5.93±0.32b	21.85±0.37cd
Cd-PEG 10%	17.27±0.49b	4.82±0.08c	26.04±0.29a
Cd-PEG 15%	16.66±0.51c	4.41±0.48c	22.07±0.74c
Cd-PEG 20%	16.44±0.41c	4.49±0.08c	20.93±0.63d
Cd-PEG 25%	14.20±0.59d	4.00±0.25cd	18.20±0.50e

表 4 PEG 预处理对 Cd 胁迫下黑麦草幼苗可溶性糖、游离脯氨酸含量及 MDA 含量的影响

处理	可溶性糖含量/ (mg·g <sup>-1</sup> )	游离脯氨酸含量/ (μg·g <sup>-1</sup> )	MDA 含量/ (nmol·g <sup>-1</sup> )
CK	105.20±1.81b	39.17±0.39b	5.43±0.11c
Cd	97.38±0.29c	41.10±0.06a	6.91±0.32b
Cd-PEG 5%	106.83±1.72b	38.99±0.05bc	6.11±0.43b
Cd-PEG 10%	111.54±0.39a	37.20±0.21d	5.11±0.14c
Cd-PEG 15%	104.10±1.89b	38.77±0.58bc	6.28±0.20b
Cd-PEG 20%	105.89±2.91b	39.55±0.86b	6.31±0.36b
Cd-PEG 25%	84.47±1.29d	40.74±0.74ab	7.42±0.49a

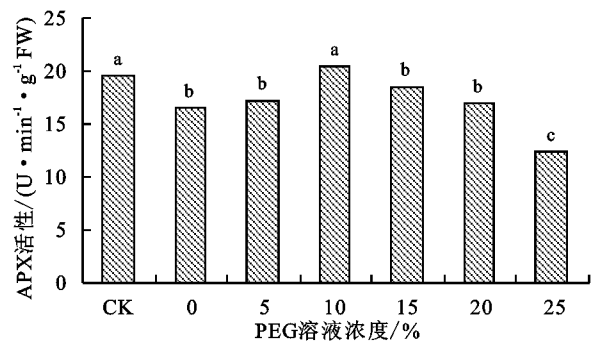
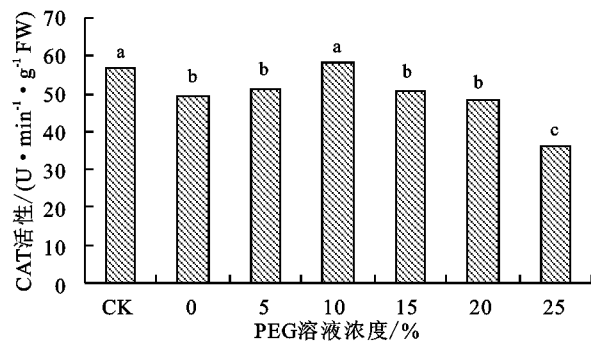
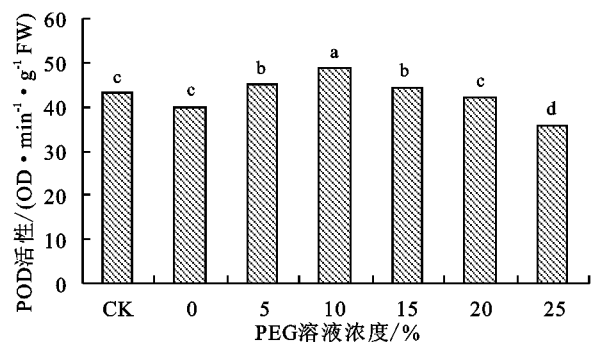
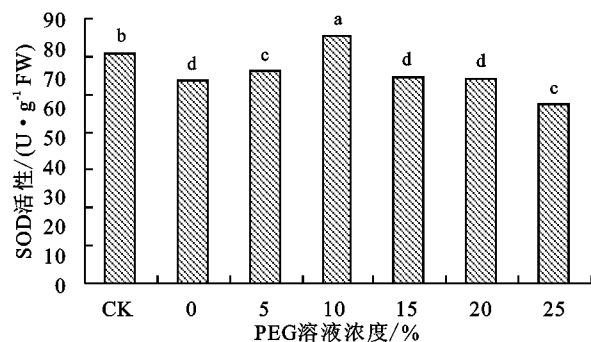


图 2 PEG 预处理 Cd 胁迫下多年生黑麦草叶片抗氧化酶活性的变化

由表 4 可知,10 mg/L 浓度的镉胁迫下,多年生黑麦草的 MDA 含量和游离脯氨酸含量都有不同程度的升高,分别比 CK 升高了 27.3%和 21.0%。而经过浓度为 5%~25%(-0.77~-0.05 MPa)的 PEG 预处理的黑麦草幼苗,MDA 含量和游离脯氨酸含量随着 PEG 浓度的升高出现了先降后升的趋势,除了 25%(-0.77 MPa)的 PEG 预处理之外,其他预处理组的 MDA 含量和游离脯氨酸含量均比未处理的对照组有所下降。其中 10%(-0.15 MPa)的 PEG 处理下降效果最为显著,分别比未处理对照组下降了 26.0%和 35.1%。和其他几个生理指标结果相似,脯氨酸含量和 MDA 含量这 2 个指标同样显示出,10% PEG 预处理对 10 mg/L 的镉胁迫的缓解效果最为显著。

由图 2 可知,5%~25%(-0.77~-0.05 MPa)的 PEG 预处理下,黑麦草幼苗的 SOD、POD、CAT、APX 活性总体呈先升后降的趋势。5%~20%(-0.50~-0.05 MPa)的 PEG 预处理均比未预处理组酶活性增加,在 PEG 10%(-0.15 MPa)效果最为显著,黑麦草幼苗的 SOD、POD、CAT、APX 活性分别比未预处理组增加了 22.2%,28.9%,17.9%,23.4%。而当 PEG 浓度增加到 25%(-0.77 MPa),多年生黑麦草的 SOD、POD、CAT、APX 活性均出现下降趋势,分别比对照下降了 11.5%,14.8%,26.5%,25%。本研究表明,PEG 预处理可以提高多年生黑麦草幼苗叶片抗氧化酶活性,增强植物对镉的耐受能力,但是 PEG 预处理对植物胁迫的缓解效果有一定的最适作用浓度,不同的胁迫环境,PEG 预处理最适作用浓度不同。

### 3 讨论

#### 3.1 PEG 预处理对逆境胁迫下黑麦草光合色素的影响

叶绿素在光合作用中起着重要的作用,负责光能的转换和吸收。叶绿素含量可以在一定程度上反映植物的光合作用强度<sup>[23]</sup>。通常认为植物在逆境条件下叶绿素酶活性升高,加速叶绿素分解,导致叶片叶绿素含量下降<sup>[24-25]</sup>;但 Werner 等<sup>[26]</sup>研究表明,盐胁迫可以加大植物叶绿素的含量,而这可能是盐胁迫下游离脯氨酸大量积累有利于叶绿素合成的结果<sup>[26-27]</sup>。逆境胁迫下植物生长受抑与多种生理反应有关,已有研究<sup>[28]</sup>表明,PEG 预处理可调节这些逆境胁迫相关的代谢反应,例如增加光合速率和叶绿素含量、调节抗氧化酶活性等。潘兴<sup>[29]</sup>的研究结果显示,经过 PEG 预处理的水稻幼苗叶绿素含量比未经预处理的水稻幼苗叶绿素含量显著升高,这与本研究结果一致,本研究中 PEG 预处理的多年生黑麦草幼苗,在盐胁迫和镉胁迫下的叶绿素含量均比未经预处理的幼苗叶绿素含量有所提高,并且结果显示,最佳的预处理浓度分别是 150 mmol/L 盐胁迫下 15%(-0.30 MPa)PEG 效果最明显,10 mg/L 镉胁迫下,10%(-0.15 MPa)PEG 效果最明显。

#### 3.2 PEG 预处理对逆境胁迫下黑麦草渗透调节物质的影响

植物为适应外界的干旱、高盐、重金属超标等不良环境,在逆境胁迫下组织细胞的渗透势降低,这种现象称为渗透调节<sup>[30]</sup>。逆境胁迫时,植物体内重要的渗透调节物质游离脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白等有机溶质主动积累,以提高细胞液浓度,降低渗透势,增强持水、吸水能力,保持细胞生长、气孔开放和光合作用等生理过程,提高植物抗胁迫能力<sup>[31-33]</sup>。盐胁迫、镉胁迫等逆境胁迫下植物组织内的游离脯氨酸大量积累是一个普遍现象,在很多植物研究中都有发现<sup>[34-35]</sup>。但是关于游离脯氨酸和植物抗逆性的关系,以及游离脯氨酸是否能作为鉴定植物抗性的指标一直存在争议。有研究<sup>[36]</sup>认为,游离脯氨酸合成是在逆境胁迫下被动合成;也有学者<sup>[37]</sup>认为,游离脯氨酸的累积是自身主动合成,是植物对逆境的忍受结果。刘一明等<sup>[37]</sup>用 4 种暖季型草坪植物进行抗盐性的试验发现,游离脯氨酸增加量与抗旱盐性呈正相关,这与高战武<sup>[38]</sup>对紫花苜蓿和燕麦抗盐碱机制研究的结果一致;而有研究<sup>[39]</sup>却提出,盐胁迫下大叶藻和拟南芥游离脯氨酸含量的变化与抗逆性没有显著相关性,游离脯氨酸的积累只是植物在逆境时的一种表现。因此,能否把游离脯氨酸作为植物抗性鉴定和育种指

标还存在一些分歧。本试验与吕娥娥<sup>[40]</sup>研究苗期蒙古岩黄芪对干旱和 NaCl 胁迫的生理响应有相似的研究结果,游离脯氨酸含量随着干旱胁迫和 NaCl 胁迫水平的增加而上升。而经过 PEG 预处理的多年生黑麦草幼苗叶片游离脯氨酸含量较未经预处理的明显下降,这与刘贵河等<sup>[9]</sup>研究结果一致。

作为主要渗透调节物质的可溶性糖,可稳定原生质体和细胞膜,供给能量、提供有机溶质合成的碳架<sup>[41]</sup>;有研究<sup>[42-43]</sup>指出,盐胁迫、镉胁迫下细胞内可溶性糖的积累可以反映植物抗逆性的高低。试验中,盐胁迫和镉胁迫不同处理下,可溶性糖含量的响应有所差别,但均有下降的趋势,而经过 PEG 预处理后,2 种胁迫下,可溶性糖含量较未预处理组均有所增加,表明 PEG 预处理的试验材料可通过增加体内可溶性糖含量来维持渗透平衡,增加其抗逆性。

#### 3.3 PEG 预处理对逆境胁迫下黑麦草膜脂过氧化作用的影响

质膜是细胞的重要结构,是细胞与外界物质的交换通道,植物受到逆境胁迫时,活性氧清除体系失衡,植物体内积累的大量活性氧自由基会对不饱和脂肪酸进行攻击,由此导致的膜脂过氧化会改变质膜组分,使质膜失去功能<sup>[44]</sup>。MDA 作为膜脂过氧化作用的产物之一,它可以结合、交联质膜上的蛋白质,使之失活,从而破坏质膜的结构和功能<sup>[45]</sup>。因此,MDA 可作为膜脂过氧化程度的指标,衡量细胞膜的伤害程度和植物对逆境条件的反应强弱。梅映学等<sup>[11]</sup>研究 PEG 预处理对盐胁迫下水稻幼苗的缓解作用,发现 PEG 预处理的水稻幼苗,在受到盐胁迫时较未经 PEG 预处理组的 MDA 含量有明显的下降,这与本试验的研究结果一致。表明多年生黑麦草幼苗在盐和镉胁迫下,膜系统受到了损伤,并且这种损伤与质膜的过氧化作用密切相关。逆境胁迫下,植物 MDA 含量增加应该是一个普遍现象,本研究中经 PEG 预处理的多年生黑麦草在逆境胁迫下的 MDA 含量比未经过预处理的黑麦草幼苗有显著下降,其原因可能是在 PEG 预处理下多年生黑麦草体内的自由基清除系统活性高,能有效减少膜脂过氧化伤害,这也是 PEG 预处理能提高植物抗逆性的原因之一。

#### 3.4 PEG 预处理对逆境胁迫下黑麦草幼苗保护酶系统的影响

植物在逆境胁迫下,体内活性氧(ROS)的产生与清除失去平衡,积累了大量的 ROS 而发生氧化胁迫。为避免活性氧累积的伤害,植物通过提高抗氧化酶(SOD、POD、CAT、APX 等)活性来清除活性氧<sup>[11]</sup>。

本试验中,盐胁迫和镉胁迫下多年生黑麦草叶片的 POD、CAT、APX 活性下降,这一结果与 Garg 等<sup>[46]</sup>的研究相吻合。但盐胁迫下 SOD 活性呈上升趋势,可能由于盐胁迫处理的 NaCl 浓度较低,植物可以通过启动自身条件保护机制,来提高抗逆性。镉胁迫下多年生黑麦草叶片 SOD、POD、CAT、APX 活性呈下降趋势,这与刘俊祥等<sup>[47]</sup>研究结果一致。2 种胁迫下,PEG 预处理的多年生黑麦草幼苗叶片 SOD、POD、CAT、APX 活性均比未经预处理的对照组有显著升高,并伴随着 PEG 浓度的升高,呈先上升后下降的趋势,这与李晓东等<sup>[33]</sup>和富春元等<sup>[48]</sup>的研究结果一致。由此可以看出,环境胁迫诱导多年生黑麦草幼苗体内活性氧大量累积,细胞质膜受损,体内 MDA 水平升高,植物抗氧化酶防御系统随即被激活,试图通过 SOD、POD 等抗氧化酶活性的升高来清除过多的自由基,但是大量的自由基积累破坏了质膜的结构和功能,机体内许多相关蛋白合成受阻,严重影响了 SOD、POD 等抗氧化酶基因的表达,其活性随之下降低,PEG 预处理可以提高抗氧化酶活性,体现了 PEG 预处理的多年生黑麦草幼苗在受到逆境胁迫时,比未经 PEG 预处理的幼苗抵抗力有所提高,可以在一定程度上缓解胁迫伤害。

## 4 结论

通过研究 PEG 预处理对盐胁迫和镉胁迫下多年生黑麦草生理特性的影响,表明 PEG 预处理可以通过调节逆境胁迫下多年生黑麦草光合色素、渗透调节物质、膜脂过氧化作用、抗氧化酶系统等,增强植物对盐和镉的耐受能力,但是 PEG 预处理对植物胁迫的缓解效果有浓度效应,最适作用浓度会在不同植物、不同胁迫浓度和时间下表现出差异性;本试验得到的最佳的预处理浓度分别为 150 mmol/L 盐胁迫下 15%(-0.30 MPa)PEG 效果最明显;10 mg/L 镉胁迫下 10%(-0.15 MPa)PEG 预处理效果最明显。

本研究只是从生理指标方面探讨了 PEG 预处理对盐胁迫和镉胁迫下多年生黑麦草幼苗的影响,表明植物对逆境胁迫具有交叉适应能力,即指植物在经历了某种胁迫后,对另一些逆境的抵抗能力会随之增加。而综合分析 PEG 预处理对多年生黑麦草逆境胁迫的生理影响和分子响应,从而揭示其抗逆性适应的生理和分子机理,是下一步研究的工作重点。

### 参考文献:

[1] Hua Y, Cai H, Bai X, et al. Research progress on plant salt stress tolerance genetic engineering [J]. Journal of Northeast

Agricultural University, 2010, 41(10): 150-156.

- [2] Tester M, Davenport R. Na<sup>+</sup> Tolerance and Na<sup>+</sup> Transport in Higher Plants [J]. Annals of Botany, 2003, 91(5): 503-527.
- [3] 郭文芳,农万廷,李刚强,等.植物耐盐碱基因工程研究进展[J].生物技术通报,2015,31(7):11-17.
- [4] 薛亮,刘建锋,史胜青,等.植物响应重金属胁迫的蛋白质组学研究进展[J].草业学报,2013,22(4):300-311.
- [5] 夏方山,闫慧芳,毛培胜,等.PEG 引发对燕麦老化种子萌发与幼苗生长的影响[J].草业科学,2015,32(5):731-737.
- [6] 杨景宁,王彦荣.PEG 模拟干旱胁迫对 4 种荒漠植物种子萌发的影响[J].草业学报,2012,21(6):23-29.
- [7] 孙艳茹,石屹,陈国军,等.PEG 模拟干旱胁迫下 8 种绿肥作物萌发特性与抗旱性评价[J].草业学报,2015,24(3):89-98.
- [8] 刘杰,刘公社,齐冬梅,等.聚乙二醇处理对羊草种子萌发及活性氧代谢的影响[J].草业学报,2002,11(1):59-64.
- [9] 刘贵河,郭郁频,任永霞,等.PEG 胁迫下 5 种牧草饲料作物种子萌发期的抗旱性研究[J].种子,2013,32(1):15-19.
- [10] 彭燕,李州.干旱预处理对抗旱性不同的 2 个草地早熟禾品种耐热性能的影响[J].草业学报,2013,22(5):229-238.
- [11] 梅映学,魏玮,张诗婉,等.干旱锻炼对盐胁迫下水稻幼苗根系抗氧化酶活性的影响[J].浙江农业学报,2016,28(8):1304-1308.
- [12] 褚妍.PEG 预处理对水分胁迫下水稻抗氧化酶同工酶及其表达的影响[D].沈阳:沈阳师范大学,2011.
- [13] 鲍维宝,韩烈保,尹淑霞.多年生黑麦草在北京引种适应性研究[J].北京林业大学学报,2000,22(2):71-73.
- [14] 刘俊祥.多年生黑麦草对重金属镉的抗性机理研究[D].北京:中国林业科学研究院,2012.
- [15] 盛洁.黑麦草对重金属的响应及修复调控研究进展[J].作物研究,2014,28(8):948-952.
- [16] 王宏信.重金属富集植物黑麦草对锌、镉的响应及其根际效应[D].重庆:西南大学,2006.
- [17] 王慧忠,李鹃.重金属镉、铅对多年生黑麦草细胞内几种抗氧化酶基因表达的影响[J].农业环境科学学报,2008,27(6):2371-2376.
- [18] Hu L X, Li H Y, Pang H C, et al. Responses of antioxidant gene, protein and enzymes to salinity stress in two genotypes of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) differing in salt tolerance [J]. Journal of Plant Physiology, 2012, 169(2): 146-156.
- [19] 韩建国,毛培胜.牧草种子学[M].北京:中国农业大学出版社,2011,123-128.
- [20] 张志良,瞿伟菁.植物生理学实验指导[M].3 版.北京:高等教育出版社,2003:154-169.
- [21] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高

- 等教育出版社,2000:167-169.
- [22] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is chloroplasts [J]. *Plant and Cell Physiology*, 1981, 22(5): 867-880.
- [23] 汪贵斌,曹福亮. 盐胁迫对落羽杉生理及生长的影响[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*,2003,27(3):11-14.
- [24] 吴永波,薛建辉. 盐胁迫对 3 种白蜡树幼苗生长与光合作用的影响[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2002,26(3):19-22.
- [25] 惠红霞,许兴,李守明. 宁夏干旱地区盐胁迫下枸杞光合生理特性及耐盐性研究[J]. *中国农学通报*,2002,18(5):29-34.
- [26] Werner A, Stelzer R. Physiological responses of the mangrove *Rhizophora mangle* grown in the absence and presence of NaCl [J]. *Plant Cell & Environment*, 1990, 13(3): 243-255.
- [27] 董晓霞,赵树慧,孔令安,等. 苇状羊茅盐胁迫下生理效应的研究[J]. *草业科学*,1998,15(5):11-14.
- [28] 王宇. 在 PEG 预处理下水稻幼苗对 NaCl 及 NaCl+PEG 联合胁迫的生理响应[D]. 沈阳:沈阳师范大学,2013.
- [29] 潘兴. PEG 预处理对盐胁迫下水稻幼苗生理特性的影响[D]. 沈阳:沈阳师范大学,2012.
- [30] Griffiths H, Parry M A. Plant responses to water stress [J]. *Annals of Botany*, 2002, 89(7):801-802.
- [31] 武香,倪建伟,张华新,等. 盐胁迫下不同盐生植物渗透调节的生理响应[J]. *东北林业大学学报*,2012,40(8): 29-33.
- [32] 周晓星. 柳属植物对重金属镉胁迫的生长与生理响应[D]. 北京:中国林业科学研究院,2012.
- [33] 刘晓东,李洋洋,何森. PEG 模拟干旱胁迫对玉带草生理特性的影响[J]. *草业科学*,2012,29(5):687-693.
- [34] Petrusa L M, Winicov I. Proline status in salt-tolerant and salt-sensitive alfalfa cell lines and plants in response to NaCl [J]. *Plant Physiology & Biochemistry*, 1997, 35(4): 303-310.
- [35] Haro R, Bañuelos M A, Quintero F J, et al. Genetic basis of sodium exclusion and sodium tolerance in yeast. A model for plants[J]. *Physiologia Plantarum*, 1993, 89(4): 868-874.
- [36] Chaum S, Kirdmanee C. Effect of salt stress on proline accumulation, photosynthetic ability and growth characters in two maize cultivars [J]. *Pakistan Journal of Botany*, 2009, 41(1): 87-98.
- [37] 刘一明,程凤枝,王齐,等. 4 种暖季型草坪植物的盐胁迫反应及其耐盐阈值[J]. *草业学报*,2009,18(3):192-199.
- [38] 高战武. 紫花苜蓿和燕麦抗盐碱机制研究[D]. 长春:东北师范大学,2011.
- [39] Zhao X, Tan H J, Liu Y B, et al. Effect of salt stress on growth and osmotic regulation in *Thellungiella* and *Arabidopsis callus* [J]. *Plant Cell Tissue & Organ Culture*, 2009, 98(1): 97-103.
- [40] 吕娥娥. 苗期蒙古岩黄芩对干旱和 NaCl 胁迫的生理响应[D]. 兰州:甘肃农业大学,2016.
- [41] 张海燕,芦英梅,苏俊霞. 运城盐湖植物有机渗透剂的比较研究[J]. *山西师范大学学报(自然科学版)*,2000, 14(4):64-67.
- [42] 刘晶,才华,刘莹,等. 两种紫花苜蓿苗期耐盐生理特性的初步研究及其耐盐性比较[J]. *草业学报*,2013,22(2):250-256.
- [43] Xu J, Zhu Y Y, Ge Q, et al. Comparative physiological responses of *Solanum nigrum* and *Solanum torvum* to cadmium stress [J]. *New Phytologist*, 2012, 196(1): 125-138.
- [44] 杨叶萍. 镉胁迫下苧麻(*Boehmeria nivea*)的生理生态适应性研究[D]. 南昌:江西师范大学,2016.
- [45] 蒋明义,荆家海,王韶唐. 水分胁迫与植物膜脂过氧化[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*,1991,19(2):88-94.
- [46] Garg N, Chandel S. Role of arbuscular mycorrhiza in arresting reactive oxygen species (ROS) and strengthening antioxidant defense in *Cajanus cajan* (L.) Millsp. nodules under salinity (NaCl) and cadmium (Cd) stress [J]. *Plant Growth Regulation*, 2015, 75(2): 521-534.
- [47] 刘俊祥,许新桥,钱永强,等. 多年生黑麦草抗氧化酶和植物络合素对 Cd<sup>2+</sup> 胁迫的应答[J]. *生态学杂志*, 2013,32(7):1787-1793.
- [48] 富春元,张淑娟,鱼昭君,等. PEG 模拟干旱胁迫对叶缘裂刻小白菜生理特性的影响[J]. *西北农业学报*,2014, 23(5):139-145.