

2,4-表油菜素内酯对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿幼苗根系生长抑制及氧化损伤的缓解效应*

寇江涛 师尚礼**

(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研究中心
兰州 730070)

摘要 为探讨外源 2,4-表油菜素内酯(2,4-epibrassinolide, EBR)提高紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)耐盐性的生理调控机制,采用营养液水培法,以紫花苜蓿品种‘中苜3号’和‘陇中苜蓿’为材料,研究 NaCl 胁迫下添加外源 EBR 对紫花苜蓿幼苗根系生长、渗透调节物质含量、抗氧化酶活性、非酶抗氧化物质、活性氧及 MDA 含量的影响。结果表明:150 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫下,‘中苜3号’、‘陇中苜蓿’幼苗根系的生长显著受到抑制,根系干重和根系活力显著降低,幼苗根系中的可溶性蛋白含量和抗氧化酶活性显著降低,活性氧和 MDA 含量显著增加,根系脂质过氧化程度加剧,细胞质膜完整性受到破坏。添加 0.1 μmol·L⁻¹ 外源 EBR 显著增加了 2 个品种苜蓿幼苗的主根长、根系总长度、根系总表面积、根体积、根尖数、根系干重和根系活力,幼苗根系中的可溶性蛋白含量、抗氧化酶(SOD、APX、GPX、CAT、GR)活性、非酶抗氧化物质(AsA、GSH)含量均显著增加,超氧阴离子自由基(O₂^{·-})产生速率、羟自由基(OH[·])浓度、H₂O₂ 含量和膜脂过氧化产物 MDA 含量显著降低,有效缓解了根系脂质过氧化程度,提高了细胞质膜的完整性。说明外源 EBR 能够有效缓解 NaCl 胁迫对紫花苜蓿幼苗根系生长的抑制作用,增强紫花苜蓿幼苗根系的渗透调节能力和抗氧化系统活性,降低活性氧的积累和膜脂过氧化水平,减小 NaCl 胁迫对紫花苜蓿幼苗根系造成的氧化伤害,促进根系生长,增强苜蓿幼苗的抗盐性。

关键词 紫花苜蓿 NaCl 胁迫 2,4-表油菜素内酯 根系生长 渗透调节 活性氧 抗氧化系统

中图分类号: Q94 文献标识码: A 文章编号: 1671-3990(2015)08-1010-10

2,4-epibrassinolide protection against root growth inhibition and oxidative damage of *Medicago sativa* L. seedling under NaCl stress

KOU Jiangtao, SHI Shangli

(College of Grassland Science, Gansu Agricultural University / Key Laboratory of Pratacultural Ecosystem, Ministry of Education / Pratacultural Engineering Laboratory of Gansu Province / Sino-US Center for Grazingland Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China)

Abstract This study discussed physiological regulation mechanism of salt resistance improvement of *Medicago sativa* L. (‘Zhongmu 3’ and ‘Longzhong’) by exogenous 2,4-epibrassinolide (EBR) in hydroponic conditions. The study analyzed the effects of exogenous EBR on the root growth, contents of osmotic adjustment substances, content of malondialdehyde (MDA), activities of antioxidant enzymes, contents of non-enzymatic antioxidant and active oxygen of *M. sativa* seedlings under NaCl stress. The result showed that under 150 mmol·L⁻¹ NaCl stress, root growth of ‘Zhongmu 3’ and ‘Longzhong’ seedlings were restrained significantly. Also root dry weight and root activity significantly decreased along with soluble protein content and antioxidant enzyme activities decreased in seedling root. On the other hand, active oxygen and MDA contents increased significantly along with the enhanced root lipid peroxidation while plasma membrane integrity was damaged. After addition of 0.1 μmol·L⁻¹ exogenous EBR, main root length, total

* 国家现代牧草产业技术体系建设专项(CARA-35)和全国种质资源保种项目(NB2130135)资助

** 通讯作者: 师尚礼, 主要研究方向为牧草栽培、草种质资源及育种。E-mail: shishl@gsau.edu.cn

寇江涛, 主要研究方向为草种质资源及育种。E-mail: koujiangtao@st.gsau.edu.cn

收稿日期: 2015-04-10 接受日期: 2015-05-07

root length, total root surface area, root volume, root tip number, root dry weight and root activity of the two alfalfa varieties significantly increased. Also soluble protein content, antioxidant enzymes (SOD, APX, GPX, CAT, GR) activities and non-enzymatic antioxidants (AsA, GSH) contents of seedling roots increased significantly. Then the production rate of superoxide anion free radicals, concentration of hydroxyl free radicals and contents of H_2O_2 and MDA decreased dramatically. Peroxidation of root lipid was relieved and the integrity of plasma membrane was enhanced. The above results illustrated that apart from mitigating the suppression effect of NaCl stress on alfalfa seedling root growth and enhancement of osmotic adjustment and antioxidant system activity, exogenous EBR promoted root growth and salt resistance of alfalfa. It also reduced active oxygen accumulation, membrane lipid peroxidation and oxidative damage on seedling root induced by NaCl stress.

Keywords *Medicago sativa* L.; NaCl stress; 2,4-epibrassinolide; Root growth; Osmotic adjustment; Reactive oxygen species; Antioxidant system

(Received Apr. 10, 2015; accepted May 7, 2015)

盐渍化是干旱、半干旱地区土壤的一个普遍特征^[1]。据联合国教科文组织(UNESCO)和粮农组织(FAO)不完全统计,全世界的盐碱地面积为 9.54 亿 hm^2 , 而我国各类盐渍化土壤面积总计 9 913.3 万 hm^2 , 已超过我国现有耕地的 2/3, 在西北、华北、东北西部和滨海地区均有分布, 并且面积仍在不断扩大^[2]。紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)被誉为“牧草之王”, 具有高产、优质、抗逆性强、蛋白质含量高和适口性好等特点, 是世界上分布最广、最古老的栽培牧草, 也是我国种植面积最大的人工牧草^[3]。在我国西北、华北等苜蓿主产区, 由于不合理灌溉、化肥使用不当等农业措施和工业污染加剧等原因, 土壤次生盐渍化严重发生, 盐害已成为发展优质、高产苜蓿草产业的限制因子之一。

植物激素对植物的抗逆性有着重要的作用, 添加外源植物激素可有效提高植物对逆境的抵抗能力^[4]。油菜素内酯(brassinosteroids, BRs)是继生长素、赤霉素、细胞分裂素、脱落酸、乙烯之后的第六大类植物激素^[5], 在植物体内含量极低, 但生理活性却极高, 植物经其低浓度处理便能表现出明显的生理效应^[6]。BRs 可促进植物体内 DNA、RNA 和蛋白质的合成, 提高酶的活性, 参与其他许多生理过程, 进而增强植物对高盐、干旱、低温、病害、重金属污染等环境胁迫的抵抗力^[7-9]。近年来, BRs 在农业生产上已被广泛应用, 已经研究证实施用外源 BRs 可以增加作物的产量, 提高作物的抗逆性^[10-11]。此外, BRs 作为一种新型植物激素, 也可与其他植物激素表现出协调效应, 调节植物的生长发育和新陈代谢, 并具有促进植物根系生长的作用^[12-13]。研究表明, BRs 可促进苜蓿(*Medicago* spp.)、鲁梅克斯(*Rumex patientia* L.)、普那菊苣(*Cichorium intybus* L.)、串叶松香草(*Silphium perfoliatum* L.)和小冠花(*Coronilla varia* L.)等牧草种子胚根下胚轴的伸长^[14]。低温胁迫下, 添加外源 EBR 可促进辣椒(*Capsicum*

annuum L.)幼苗根系的生长, 提高其根长和根系干重^[15]。外源 BRs 可促进盐胁迫下棉花(*Gossypium* spp.)根系的生长, 提高根系活力, 减缓盐胁迫对棉花的伤害^[16]。盐胁迫下, BRs 浸种可增加小麦(*Triticum aestivum* L.)胚芽鞘长度、地上部分高度、根长、根数、地上部分干重、根干重, 明显降低地上部分质膜透性, 显著提高小麦的抗盐性^[17]。0.01~0.05 $mg \cdot L^{-1}$ 外源 BRs 可明显改善盐胁迫下黄瓜(*Cucumis sativus* L.)幼苗植株的生长发育状况, 降低盐害指数, 有效诱导黄瓜幼苗的抗盐性^[18]。目前, BRs 与植物抗逆性的关系及其信号转导途径的研究受到越来越多的关注, BRs 提高植物抗盐性的研究已成为热点^[19-21], 但有关外源 BRs 在提高苜蓿抗盐性方面的研究报道很少^[22]。

根系是植物与土壤环境接触的主要器官和界面, 在植物吸收水分和矿质营养、土壤固着及内源激素合成中起关键作用^[23]。根系是植物在土壤盐渍危害中最直接的受害部位, 也是植物感知盐胁迫信号的重要器官, 根系在感受到逆境信号后, 通过不同形态、生理变化来响应逆境胁迫信号, 并通过信号传导对有关基因的表达进行时间和空间的调整, 进而通过代谢途径和方向的改变来影响碳同化产物在不同器官中的分配比例, 最终又会影响根系生长, 并从形态和分布上来适应环境胁迫^[24-25], 因此, 研究根系对盐胁迫的应对与调控机制对植物适应逆境具有重要意义。

寇江涛等^[22]研究表明, 外源 EBR 可促进 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗根系的生长, 提高主根长、侧根数和根系活力, 但其机理还不清楚。本研究以紫花苜蓿品种‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’为材料, 研究 2,4-表油菜素内酯(2,4-epibrassinolide, EBR)对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿幼苗生长根系生长及抗氧化系统的影响, 旨在明确 EBR 调节苜蓿幼苗耐盐性的效应, 为进一步研究 BRs 调控苜蓿幼苗耐盐性的机理和利用 EBR 缓解苜蓿幼苗对盐胁迫的伤害提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试紫花苜蓿品种为‘中苜 3 号’、‘陇中苜蓿’，由甘肃农业大学草业生态系统教育部重点实验室提供。2,4-表油菜素内酯购自美国 Sigma 公司，Ruibio 分装。使用前用 98% 的乙醇溶解后稀释到适宜浓度，乙醇最终含量为 0.1% (v/v)，用吐温-80 作为展开剂，最终含量为 0.1% (v/v)。

1.2 试验设计

选取均匀、饱满、大小一致的供试苜蓿种子，用 0.1% 的 HgCl_2 溶液消毒 5 min，去离子水漂洗 6 次，用吸水纸吸干，播种于灭菌的蛭石培养钵中，种子萌发出苗后，每盆定植 10 株，转移至光照培养室[光照 $14 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ ，光通量密度 $400 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ，昼夜温度分别为 $(25 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$ 和 $(20 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$ ，相对湿度 60% 左右]中，每 3 d 浇灌一次 1/2 Hoagland 营养液，生长 35 d 后，挑选长势基本一致的幼苗洗净转入装有 1/2 Hoagland 营养液的水培盆中预培养，预培养 3 d 后开始试验。

预试验中，在 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫下，分别设置 $10^{-5} \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $10^{-4} \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $10^{-3} \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $10^{-2} \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $10^{-1} \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EBR 处理苜蓿种子和幼苗，发现 $10^{-1} \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EBR 能够促进 NaCl 胁迫下苜蓿种子萌发及幼苗生长，对盐胁迫下苜蓿幼苗的缓解效果最好^[22]，因此本试验选用 $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EBR 处理苜蓿幼苗。试验设 4 个处理：1) CK (蒸馏水)；2) $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl (NaCl)；3) $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EBR (EBR)；4) $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl + $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EBR (NaCl+EBR)；每处理 4 次重复。各个处理的溶液均用 1/2 Hoagland 营养液配制，为保证处理液浓度稳定，每隔 2 d 更换 1 次处理液，营养液间歇通入空气，同时向 EBR、EBR+NaCl 处理营养液中添加外源 EBR，使其最终浓度为 $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。试验期间，不同处理每隔 2 d 按照试验设计将 $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EBR 溶液 (EBR 和 EBR+NaCl 处理) 及蒸馏水 (CK 和 NaCl 处理) 均匀喷施于叶片正反面，喷到有液滴为止。于 NaCl 胁迫第 10 d 采取根系样品测定相关指标。

1.3 测定指标及方法

处理结束后，将各处理的根系用去离子水冲洗干净，用直尺测量苜蓿幼苗的主根长，采用台式扫描仪 (Epson Experssion) 对根系进行扫描并将图像存入电脑，扫描仪的分辨率为 300 dpi。扫描时，把根系放入透明托盘内，并注入托盘内水深 10~15 mm，

为了获得比较准确图像结果，需要整理根系，防止根系分枝互相缠绕。采用 WinRHIZO 根系分析系统软件 (Regent Instruments, Inc., Quebec, Canada) 对根系的图像进行分析，获得根系总长度、根系总表面积、根系平均直径、根体积和根尖数等特征参数。将扫描后的根系脱水后置于烘箱内 $105 \text{ }^\circ\text{C}$ 杀青 15 min，然后 $65 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘干至恒重，称量测定根系干重。根系活力采用氯化三苯基四氮唑 (TTC) 法测定^[26]。

超氧阴离子自由基 ($\text{O}_2^{\cdot-}$) 产生速率采用对氨基苯磺酸法测定^[27]，羟自由基 (OH^{\cdot}) 浓度采用 2-脱氧-D-核糖显色法测定^[27]，双氧水 (H_2O_2) 含量采用 KI 显色法测定^[27]，丙二醛 (MDA) 含量采用硫代巴比妥酸 (TBA) 显色法测定^[27]。根系脂质过氧化程度参考 Pompella 等^[28] 的方法测定，根系质膜完整性参考 Yamamoto 等^[29] 的方法测定。超氧化物歧化酶 (SOD)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、愈创木酚过氧化物酶 (GPX)、谷胱甘肽还原酶 (GR) 及过氧化氢酶 (CAT) 活性参考 De Azevedo Neto 等^[30] 方法测定。还原型抗坏血酸 (AsA) 含量采用 4, 7-二苯基-1, 10-菲咯啉 (BP) 显色法测定^[31]，还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量采用 5, 5-二硫代双-2-硝基苯甲酸 (DTNB) 显色法测定^[31]。可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 染色法测定^[26]，可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定^[26]，游离脯氨酸含量采用酸性茚三酮比色法测定^[26]。

1.4 数据处理与分析

采用 Excel 2003 进行数据处理和图表绘制，并采用 SPSS 16.0 软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和最小显著差数法 (LSD 法) 进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿幼苗根系生长的影响

如表 1 所示， $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫 10 d 后，与对照 (CK) 相比，‘中苜 3 号’、‘陇中苜蓿’幼苗的主根长、根系总长度、根系总表面积、根体积和根尖数显著降低，2 个品种苜蓿幼苗的主根长分别降低 34.00%、41.63%，根系总长度分别降低 23.77%、27.83%，根系总表面积分别降低 33.21%、36.89%，根体积分别降低 25.40%、26.03%，根尖数分别减少 33.54%、52.65%，而根系平均直径均与 CK 无显著差异。单独 $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 外源 EBR 处理对 2 个品种苜蓿幼苗的主根长、根系总长度、根系平均直径和根体积无显著影响，但增加了 2 个品种苜蓿幼苗的根系总表面积和根尖数，且均显著高于 CK。 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫下添加 $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 外源 EBR 对 2 个品种

表 1 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下不同品种紫花苜蓿幼苗根系生长的影响

Table 1 Effect of exogenous EBR on seedling root growth of different varieties seedlings of *Medicago sativa* L. under salt stress

项目 Item	品种 Variety	处理 Treatment			
		CK	NaCl	EBR	NaCl+EBR
主根长 Main root length (cm)	中苜 3 号 Zhongmu 3	10.53±1.35a	6.95±1.17b	10.31±1.61a	8.64±1.67ab
	陇中苜蓿 Longzhong	11.89±1.60a	6.94±1.25b	12.09±2.26a	9.12±1.75ab
根系总长度 Total root length (cm)	中苜 3 号 Zhongmu 3	126.29±5.89a	96.27±6.50c	132.13±4.72a	108.63±4.97b
	陇中苜蓿 Longzhong	130.52±6.57a	94.20±6.47c	138.96±7.22a	109.40±6.90b
根系总表面积 Total root surface area (cm ²)	中苜 3 号 Zhongmu 3	13.37±0.70b	8.93±0.78d	15.14±0.95a	11.41±0.87c
	陇中苜蓿 Longzhong	14.07±0.51b	8.88±0.59d	15.95±0.86a	12.56±0.55c
根系平均直径 Average root diameter (mm)	中苜 3 号 Zhongmu 3	0.42±0.03a	0.42±0.04a	0.42±0.01a	0.42±0.01a
	陇中苜蓿 Longzhong	0.43±0.02a	0.43±0.03a	0.44±0.01a	0.44±0.02a
根体积 Root volume (cm ³)	中苜 3 号 Zhongmu 3	0.63±0.02a	0.47±0.04c	0.65±0.03a	0.55±0.03b
	陇中苜蓿 Longzhong	0.73±0.04a	0.54±0.05c	0.78±0.05a	0.64±0.03b
根尖数 Root tip number	中苜 3 号 Zhongmu 3	1 267.3±76.4b	842.3±61.0d	1 421.7±50.2a	1 087.0±63.6c
	陇中苜蓿 Longzhong	1 524.7±77.1b	722.0±103.7d	1 705.7±84.5a	1 255.7±75.4c
根系干重 Root dry weight (mg·plant ⁻¹)	中苜 3 号 Zhongmu 3	95.56±10.64ab	51.12±7.34c	112.89±14.04a	80.06±8.98b
	陇中苜蓿 Longzhong	116.63±10.17ab	58.59±7.26c	124.24±11.56a	90.55±10.77b
根系活力 Root activity (μg·g ⁻¹ ·h ⁻¹)	中苜 3 号 Zhongmu 3	2 329.52±85.56b	1 220.50±91.12d	2 594.72±102.89a	1 967.33±87.06c
	陇中苜蓿 Longzhong	2 478.89±108.63b	1 160.76±128.59d	2 732.02±114.24a	2 060.76±109.55c

CK: 对照(蒸馏水); NaCl: 150 mmol·L⁻¹ NaCl; EBR: 0.1 μmol·L⁻¹ EBR; NaCl+EBR: 150 mmol·L⁻¹ NaCl + 0.1 μmol·L⁻¹ EBR; 不同小写字母表示各处理间差异达 5% 显著水平。下同。CK: the control (distilled water); NaCl: 150 mmol·L⁻¹ NaCl; EBR: 0.1 μmol·L⁻¹ EBR; NaCl+EBR: 150 mmol·L⁻¹ NaCl + 0.1 μmol·L⁻¹ EBR. Different letters show significant difference at $P < 0.05$. The same below.

苜蓿幼苗的根系平均直径无显著影响, 但增加了 2 个品种苜蓿幼苗的主根长、根系总长度、根系总表面积、根体积和根尖数, 且根系总长度(分别较 NaCl 处理提高 12.84%、16.14%)、根系总表面积(分别较 NaCl 处理提高 27.77%、41.44%)、根体积(分别较 NaCl 处理提高 17.02%、18.52%)和根尖数(分别较 NaCl 处理提高 29.05%、73.92%)均显著高于 NaCl 处理。

150 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫也显著降低了‘中苜 3 号’、‘陇中苜蓿’幼苗的根系干重和根系活力(表 1), 与 CK 相比, 2 个品种苜蓿幼苗的根系干重分别降低 46.50%、49.76%, 根系活力分别降低 47.61%、53.18%。单独 0.1 μmol·L⁻¹ 外源 EBR 处理对 2 个品种苜蓿幼苗的根系干重无显著影响, 但提高了 2 个品种苜蓿幼苗的根系活力, 且均显著高于 CK。150 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫下添加 0.1 μmol·L⁻¹ 外源 EBR 显著提高了 2 个品种苜蓿幼苗的根系干重(分别较 NaCl 处理提高 56.61%、54.55%)和根系活力(分别较 NaCl 处理提高 61.19%、77.54%)。表明外源 EBR 能够有效缓解 NaCl 胁迫对紫花苜蓿幼苗根系生长的抑制作用, 促进幼苗根系的生长, 并提高幼苗的根系活力和根系干重。

2.2 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿幼苗根系活性氧含量及膜脂过氧化的影响

由图 1 可知, 与 CK 相比, 150 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫

显著提高了‘中苜 3 号’、‘陇中苜蓿’幼苗根系的超氧阴离子自由基(O₂⁻)产生速率、羟自由基(OH[·])浓度、双氧水(H₂O₂)和丙二醛(MDA)含量, O₂⁻产生速率分别提高 124.11%、130.48%, OH[·]浓度分别提高 85.91%、76.26%, H₂O₂含量分别提高 44.43%、46.13%, MDA 含量分别提高 119.17%、130.34%。单独 0.1 μmol·L⁻¹ 外源 EBR 处理对 2 个品种苜蓿幼苗根系的 OH[·]浓度和 MDA 含量无显著影响, 但显著地降低了 2 个品种苜蓿幼苗根系的 O₂⁻产生速率和 H₂O₂含量。150 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫下添加 0.1 μmol·L⁻¹ 外源 EBR 显著降低了 2 个品种苜蓿幼苗根系的 O₂⁻产生速率(分别较 NaCl 处理降低 37.04%、37.00%)、OH[·]浓度(分别较 NaCl 处理降低 17.31%、27.20%)、H₂O₂(分别较 NaCl 处理降低 18.60%、23.11%)和 MDA 含量(分别较 NaCl 处理降低 33.60%、36.20%)。说明 NaCl 胁迫增加了苜蓿幼苗根系的活性氧水平, 膜脂过氧化程度加剧, 而添加外源 EBR 能够有效缓解 NaCl 胁迫所导致的氧化损伤和膜脂过氧化伤害, 从而降低细胞膜的受损程度, 提高了苜蓿幼苗抗 NaCl 胁迫的能力。

2.3 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿幼苗根系脂质过氧化和质膜完整性的影响

根尖是植物根系组织中生命活动最活跃的部分, 也是最先感受盐胁迫信号的部位。采用组织化学染色法直观反映了外源 EBR 对 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗根组

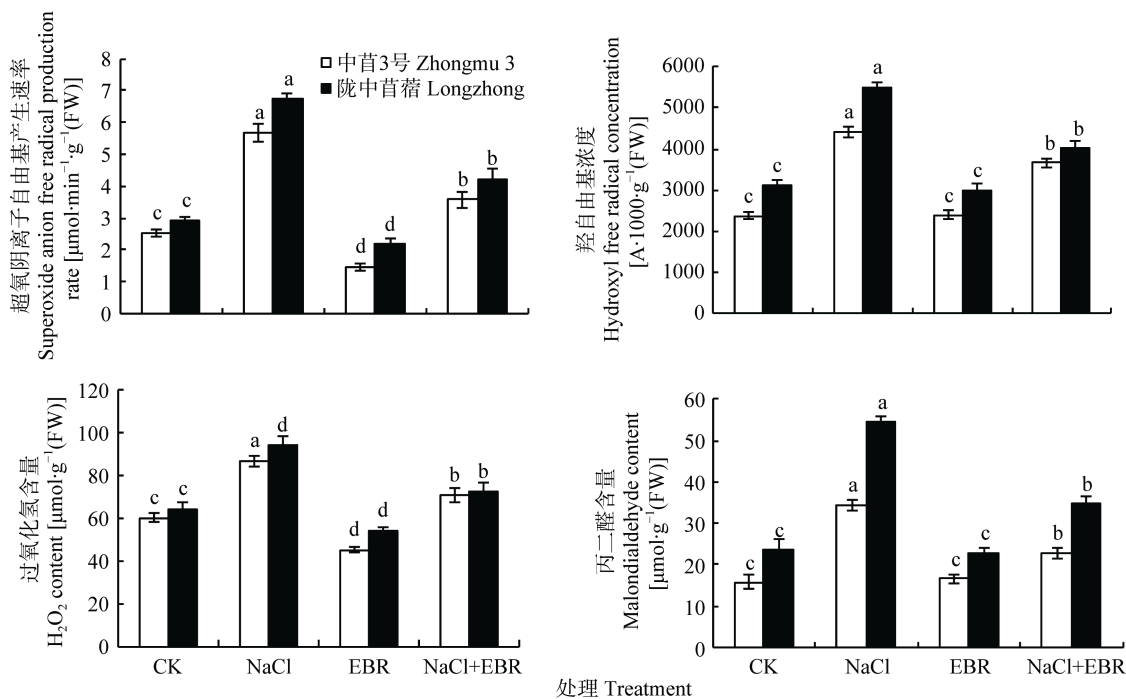


图 1 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下不同品种紫花苜蓿幼苗根系活性氧及 MDA 含量的影响

Fig. 1 Effects of exogenous EBR on root active oxygen and MDA content of different varieties seedlings of *Medicago sativa* L. under salt stress

脂质过氧化程度和质膜完整性的影响(图 2)。植物根组织在希夫试剂染色后,着色程度即粉红色深浅能直观反映根系脂质过氧化程度,与 CK 相比,150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫下,‘中苜 3 号’、‘陇中苜蓿’幼苗根尖部粉红色明显加深,而添加 0.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 外源 EBR 后,根尖组织染色程度明显变浅,表明外源 EBR 对 NaCl 胁迫下苜蓿根系脂质过氧化具有缓解作用。

用伊文思蓝试剂对植物根系进行染色,蓝色深浅可作为根系细胞膜完整性的一个指标,颜色越深,表示质膜完整性越差。与 CK 相比,150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫下,‘中苜 3 号’、‘陇中苜蓿’幼苗根尖部蓝色显著加深,说明 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗根系细胞质

膜完整性受到破坏,添加 0.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 外源 EBR 明显降低了根尖部的蓝色,表明外源 EBR 能明显缓解 NaCl 胁迫导致的细胞质膜破坏。

2.4 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿幼苗根系抗氧化系统的影响

由图 3 可知,150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫显著降低了‘中苜 3 号’、‘陇中苜蓿’幼苗根系的超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、愈创木酚过氧化物酶(GPX)和过氧化氢酶(CAT)活性,显著提高了谷胱甘肽还原酶(GR)活性。和 CK 相比,2 个品种苜蓿幼苗根系的 SOD 活性分别降低 58.09%、56.66%,APX 活性分别降低 35.49%、38.98%,GPX 活性分别

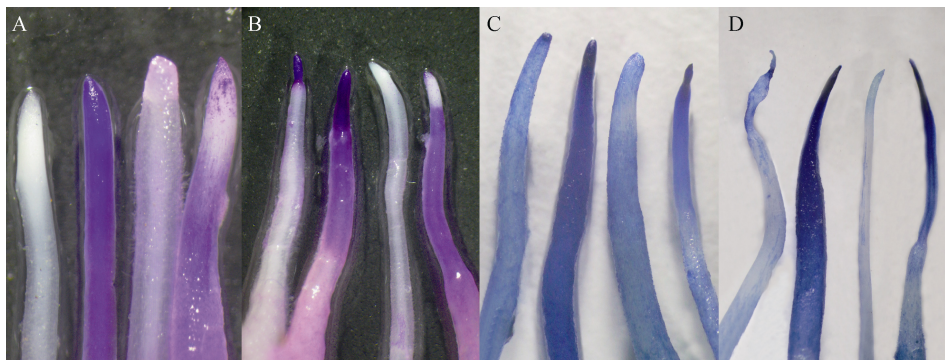


图 2 组织化学染色法分析外源 EBR 对 NaCl 胁迫下不同品种紫花苜蓿幼苗根系脂质过氧化(A、B)和质膜完整性(C、D)的影响
Fig. 2 Effects of exogenous EBR on root lipid peroxidation (A, B) and plasma membrane integrity (C, D) of seedlings of different varieties of *Medicago sativa* L. under salt stress by histochemical staining

图 A、B、C、D 中各处理的顺序从左至右依次为: CK(蒸馏水)、NaCl、EBR、NaCl+EBR。其中, A、C 图的品种为‘中苜 3 号’, B、D 图的品种为‘陇中苜蓿’。The treatments in each graph (A, B, C, D) from left to right are CK, NaCl, EBR, NaCl+EBR. A and C represent ‘Zhongmu 3’, B and D represent ‘Longzhong’.

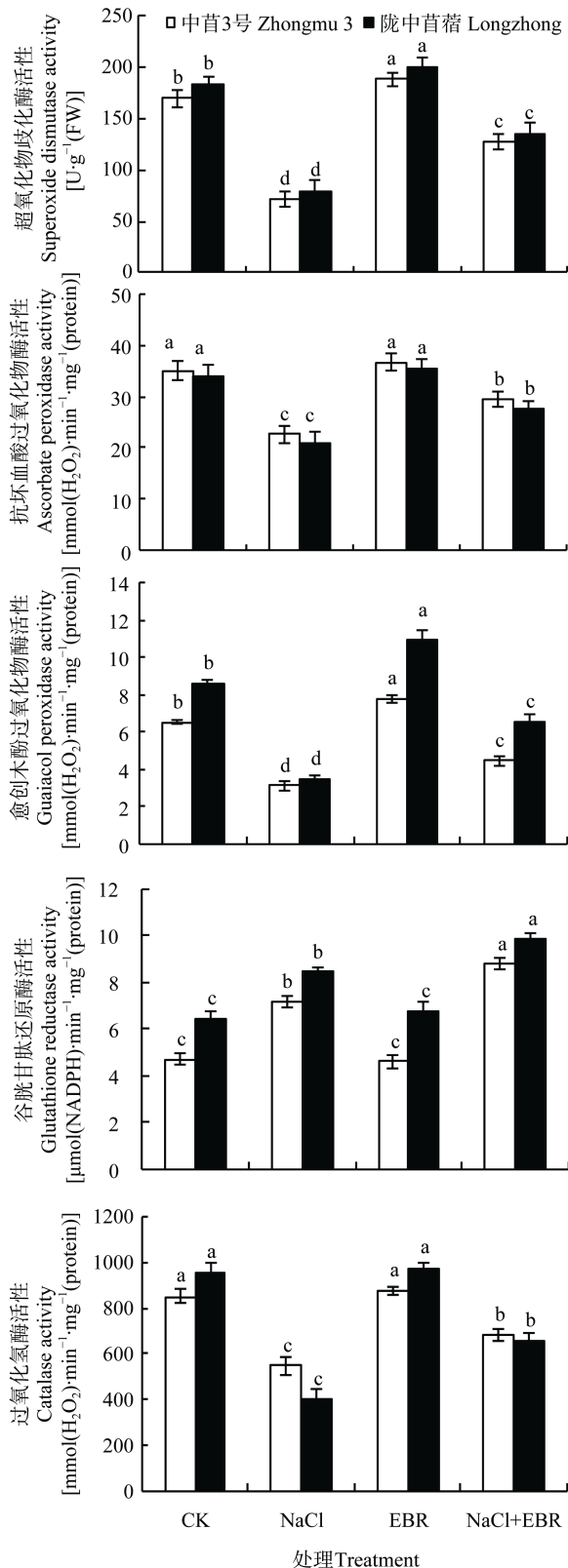


图 3 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下不同品种紫花苜蓿幼苗根系抗氧化酶活性的影响

Fig. 3 Effects of exogenous EBR on root antioxidant enzymes activities of seedlings of different varieties of *Medicago sativa* L. under salt stress

降低 52.31%、59.42%，CAT 活性降低 35.97%、58.05%，GR 活性分别提高 52.44%、30.45%。单独 0.1 μmol·L⁻¹

外源 EBR 处理对 2 个品种苜蓿幼苗根系的 APX、GR、CAT 活性无显著影响，但显著提高了 2 个品种苜蓿幼苗根系的 SOD、GPX 活性。150 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫下添加 0.1 μmol·L⁻¹ 外源 EBR 显著提高了 2 个品种苜蓿幼苗根系的 SOD 活性(分别较 NaCl 处理提高 78.54%、69.83%)、APX 活性(分别较 NaCl 处理提高 30.05%、33.27%)、GPX 活性(分别较 NaCl 处理提高 43.55%、87.39%)和 CAT 活性(分别较 NaCl 处理提高 24.83%、63.81%)，并进一步提高了 2 个品种苜蓿幼苗根系的 GR 活性(分别较 NaCl 处理提高 22.28%、16.82%)。表明添加外源 EBR 能够诱导 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗根系的抗氧化酶活性显著提高，从而提高植株体内的活性氧清除能力，有效缓解膜脂过氧化对苜蓿幼苗造成的伤害，从而提高苜蓿幼苗对 NaCl 胁迫的耐性。

还原型抗坏血酸(AsA)和还原型谷胱甘肽(GSH)作为植物体主要的抗氧化物质，是自由基清除系统的重要组成部分。由图 4 可知，150 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫 10 d 后，与 CK 相比，‘中苜 3 号’、‘陇中苜蓿’幼苗根系的 AsA 和 GSH 含量均显著升高，2 个品种苜蓿幼苗根系的 AsA 含量分别提高 28.09%、26.18%，GSH 含量分别提高 46.15%、32.00%。单独 0.1 μmol·L⁻¹ 外源 EBR 处理均显著提高了 2 个品种苜蓿幼苗根系的 AsA、GSH 含量。150 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫下添加 0.1 μmol·L⁻¹ 外源 EBR 进一步提高了 2 个品种苜蓿幼苗根系的 AsA(分别较 NaCl 处理提高 39.03%、37.74%)、GSH 含量(分别较 NaCl 处理提高 26.32%、33.33%)。添加外源 EBR 显著提高了 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗根系的 AsA、GSH 含量，而高水平的抗氧化物质含量增强了苜蓿幼苗对 NaCl 胁迫的耐性。

2.5 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿幼苗根系渗透调节物质含量的影响

如表 2 所示，150 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫 10 d 后，与 CK 相比，‘中苜 3 号’、‘陇中苜蓿’幼苗根系的可溶性蛋白含量显著降低，可溶性糖、游离脯氨酸含量显著升高，2 个品种苜蓿幼苗根系的可溶性蛋白含量分别降低 48.79%、54.35%，可溶性糖含量提高 86.56%、103.90%，游离脯氨酸含量提高 187.94%、152.63%。单独 0.1 μmol·L⁻¹ 外源 EBR 处理对 2 个品种苜蓿幼苗根系的可溶性糖、游离脯氨酸含量均无显著影响，但显著提高 2 个品种苜蓿幼苗根系的可溶性蛋白含量。150 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫下添加 0.1 μmol·L⁻¹ 外源 EBR 显著提高了 2 个品种苜蓿幼苗根系的可溶性蛋白含量(分别较 NaCl 处理提高 58.84%、88.48%)，显著降低了 2 个品种苜蓿幼苗根

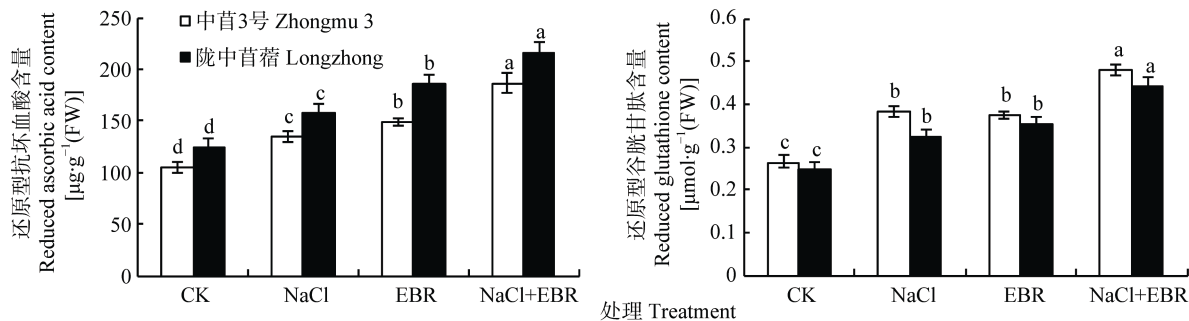


图 4 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下不同品种紫花苜蓿幼苗根系非酶抗氧化物质含量的影响

Fig. 4 Effects of exogenous EBR on root non-enzymatic antioxidants contents of seedlings of different varieties of *Medicago sativa* L. under salt stress

表 2 外源 EBR 对 NaCl 胁迫下不同品种紫花苜蓿幼苗根系渗透调节物质含量的影响

Table 2 Effects of exogenous EBR on root osmotic adjustment substances contents of seedlings of different varieties of *Medicago sativa* L. under salt stress

项目 Item	品种 Variety	处理 Treatment			
		CK	NaCl	EBR	NaCl+EBR
可溶性蛋白含量 Soluble protein content [mg·g ⁻¹ (FW)]	中苜 3 号 Zhongmu 3	32.59±1.60b	16.69±1.47d	35.74±1.34a	26.51±1.88c
	陇中苜蓿 Longzhong	30.03±1.79b	13.71±1.35d	34.67±1.26a	25.84±1.74c
可溶性糖含量 Soluble sugar content [mmol·g ⁻¹ (FW)]	中苜 3 号 Zhongmu 3	128.44±7.20c	239.62±8.71a	130.21±7.01c	177.29±11.56b
	陇中苜蓿 Longzhong	135.26±9.19c	275.79±9.61a	129.82±7.10c	189.26±11.32b
游离脯氨酸含量 Free proline content [µmol·g ⁻¹ (FW)]	中苜 3 号 Zhongmu 3	94.69±8.14c	253.86±12.24a	87.91±9.79c	142.33±8.81b
	陇中苜蓿 Longzhong	108.12±8.77c	273.14±12.17a	101.85±6.43c	155.10±13.96b

系的可溶性糖(分别较 NaCl 处理降低 26.01%、31.38%)和游离脯氨酸含量(分别较 NaCl 处理降低 43.93%、43.22%)。表明 NaCl 胁迫造成了苜蓿幼苗根系的渗透胁迫,而添加外源 EBR 能够通过渗透调节来维持根系渗透压和功能,进而维持细胞正常的代谢,有效缓解 NaCl 胁迫对苜蓿幼苗根系造成的伤害,并促进 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗根系的生长。

3 讨论

根系生长受抑制是盐胁迫下植物最早和最明显的症状^[32],而根系活力能够反映植物对逆境的适应能力。本试验中,150 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫显著降低了‘中苜 3 号’和‘陇中苜蓿’幼苗的主根长、根系总长度、根系总表面积、根体积、根尖数、根系干重和根系活力,说明 NaCl 胁迫抑制了苜蓿幼苗根系的生长,并对苜蓿幼苗根系的功能造成了破坏;添加 0.1 µmol·L⁻¹ 外源 EBR 能够促进 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗的生长,显著增加了 2 个品种苜蓿幼苗的主根长、根系总长度、根系总表面积、根体积和根尖数,并提高了苜蓿幼苗的根系干重和根系活力,说明外源 EBR 能够有效缓解 NaCl 胁迫对苜蓿幼苗根系生长的抑制作用。这与贾洪涛等^[17]、尚茂荣等^[18]的研究结果一致。陆晓民等^[33]研究结果也证实了外源 EBR 能够提高

逆境胁迫下植物根系的活力水平。

在正常生理条件下,植物体内活性氧(reactive oxygen species, ROS, 包括 O₂⁻、OH[·]、H₂O₂)代谢受酶促系统(SOD、APX、GPX、GR、CAT 等)和非酶促系统(AsA、GSH 等)调控而处于动态平衡^[34]。当植物处于在逆境条件时,植物体内 ROS 代谢产生紊乱,ROS 大量产生,膜脂过氧化产物 MDA 大量积累,导致细胞产生氧化胁迫和膜系统损伤,从而对植物造成严重的氧化伤害^[27]。在抗氧化系统中,SOD 能歧化分子氧活化的第一个中间物 O₂⁻生成 H₂O₂ 和 O₂,组成了细胞体内第一道抗氧化防线,但 H₂O₂ 对 SOD 活性有抑制作用,此时 POD、CAT 对 H₂O₂ 的清除将有利于 SOD 活性的发挥^[35],而且 APX、GPX 对 H₂O₂ 的亲水性很高,能够通过 Halliwell-Asada 途径来清除 H₂O₂^[36],同时非酶抗氧化剂 AsA、GSH 可通过 AsA-GSH 循环来直接清除 ROS,并与 APX 和 GR 协同作用清除 H₂O₂^[37]。NaCl 胁迫导致 ROS 代谢失衡,从而引起膜脂过氧化作用是植物生长受抑制的主要原因^[38]。本试验中,150 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫下,‘中苜 3 号’、‘陇中苜蓿’幼苗根系的 SOD、APX、GPX 和 CAT 活性显著降低,O₂⁻ 产生速率、OH[·] 浓度、H₂O₂ 和 MDA 含量显著增加,说明 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗根系的 ROS 代谢平衡被打破,ROS

的过量积累和膜脂过氧化程度加剧对苜蓿幼苗根系造成了氧化损伤; 组织化学染色法结果进一步说明 NaCl 胁迫加剧了苜蓿幼苗根系的脂质过氧化程度, 破坏了细胞质膜的完整性。由于 SOD 歧化 $O_2^{\cdot-}$ 生成了过量的 H_2O_2 , H_2O_2 不能被及时清除, 它将与 $O_2^{\cdot-}$ 或一些过度簇金属离子反应形成更具毒性的 OH^{\cdot} ^[39], 同时过量的 H_2O_2 又抑制了 SOD 和 CAT 的活性。但在 $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫下苜蓿幼苗根系的 GR 活性和 AsA、GSH 含量显著升高, 说明 NaCl 胁迫下非酶抗氧化剂在苜蓿幼苗根系的抗氧化胁迫中发挥着更为重要的作用。添加 $0.1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 外源 EBR 后, 苜蓿幼苗根系的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率、 OH^{\cdot} 浓度、 H_2O_2 和 MDA 含量显著降低, 抗氧化酶 SOD、APX、GPX、CAT 和 GR 活性显著升高, 非酶抗氧化物质 AsA、GSH 含量进一步升高, 组织化学染色法显示苜蓿根系脂质过氧化程度和细胞质膜完整性的破坏程度明显降低。陆晓民等^[33]研究表明, 逆境胁迫下添加 EBR 可提高黄瓜幼苗根系中 SOD、POD、CAT 等抗氧化酶活性, 降低 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率、 H_2O_2 和 MDA 含量及细胞膜透性, 提高根系活力, 能有效缓解逆境胁迫造成的伤害, 这与本试验结果一致。说明 NaCl 胁迫下添加外源 EBR 能够激活苜蓿幼苗根系抗氧化系统, 促进抗氧化酶活性增强和抗氧化剂含量升高, 有效降低 ROS 和膜脂过氧化产物 MDA 的积累。

任何逆境都会引起植物的渗透胁迫, 渗透调节是减少逆境伤害的一个重要特征^[40]。盐胁迫引起的渗透胁迫破坏植物体的一些关键生理过程, 植物体则通过积累可溶性蛋白、可溶性糖和游离脯氨酸等小分子有机溶质来缓解盐胁迫的不利影响^[41]。其中, 可溶性蛋白除参与渗透调节外^[42], 还能够反映植物器官功能的变化^[43], 游离脯氨酸能够调控和维持植物的渗透势, 以提高植株的耐盐性^[44], 可溶性糖在植物体内具有渗透保护、碳储存和清除自由基的作用^[45]。本试验中, $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫显著降低了‘中苜 3 号’、‘陇中苜蓿’幼苗根系的可溶性蛋白含量, 显著增加了苜蓿幼苗根系的可溶性糖、游离脯氨酸含量, 说明 NaCl 胁迫破坏原生蛋白质是生化损害的一种特殊形式, 使得可溶性蛋白合成速度下降, 水解速率加快, 对苜蓿幼苗根系的生理功能造成了破坏, 但可溶性蛋白水解产生的大量游离氨基酸有利于根系进行渗透调节, 这也是游离脯氨酸含量升高的可能原因之一。添加 $0.1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 外源 EBR 后, 苜蓿幼苗根系的可溶性蛋白含量显著提高, 说明外源 EBR 有利于促进植株根系中蛋白质的生物合成,

以维持根系稳定的渗透压和恢复根系功能; 而可溶性糖、游离脯氨酸含量和 NaCl 胁迫相比显著降低, 但显著高于 CK 处理, 表明外源 EBR 能够通过调节可溶性糖、游离脯氨酸含量的变化来维持植物体内细胞渗透势, 从而减轻 NaCl 胁迫对苜蓿幼苗的伤害, 其原因可能和外源 EBR 参与调控植物的 C、N 代谢有关, 调控机理还有待进一步研究。孙珊珊等^[46]研究表明, 盐胁迫下施用外源 EBR 能够通过调节多年生黑麦草(*Lolium perenne* L.) 幼苗脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白等渗透调节物质含量的变化, 来有效缓解盐胁迫对幼苗造成的伤害, 与本试验的结果一致。因此, 外源 EBR 可通过渗透调节来维持 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗根系的渗透压稳定和恢复根系功能, 进而促进 NaCl 胁迫下苜蓿幼苗根系的生长。

BRs 与植物耐盐性的关系, 因植物种类、个体发育阶段而不同, EBR 与植物逆境生理代谢的关系也与 EBR 本身的处理浓度和时间、胁迫因子和胁迫时间等多种因素有关, 因此外源 EBR 在盐胁迫下调控苜蓿耐盐性的作用机制将有待于从生理代谢的分子水平及 BRs 的信号转导途径方面作进一步深入的研究。

4 结论

综上所述, $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫显著抑制了紫花苜蓿幼苗根系的生长和根系活力, 降低了苜蓿幼苗根系中的可溶性蛋白含量和抗氧化酶活性, 活性氧积累量和 MDA 含量显著增加。添加 $0.1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 外源 EBR 能有效缓解 NaCl 胁迫对紫花苜蓿幼苗根系生长的抑制作用, 使得苜蓿幼苗根系干重、根系活力、可溶性蛋白含量及抗氧化酶活性、非酶抗氧化物质含量显著增加, 显著降低了活性氧积累量和膜脂过氧化水平, 缓解了 NaCl 胁迫对根系造成的氧化伤害, 促进了根系生长, 增强了苜蓿幼苗的抗盐性。

参考文献

- [1] 权全, 解建仓, 沈冰, 等. 基于实测数据及遥感图片的土壤采样方法[J]. 农业工程学报, 2010, 26(12): 237-241
Quan Q, Xie J C, Shen B, et al. Soil sampling method based on field measurements and remote sensing images[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2010, 26(12): 237-241
- [2] 李彬, 王志春, 孙志高, 等. 中国盐碱地资源与可持续利用研究[J]. 干旱地区农业研究, 2005, 23(2): 154-158
Li B, Wang Z C, Sun Z G, et al. Resources and sustainable resource exploitation of salinized land in China[J].

- Agricultural Research in the Arid Areas, 2005, 23(2): 154–158
- [3] 洪绂曾. 苜蓿科学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2009
Hong F Z. Alfalfa Science[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2009
- [4] 王若梦, 董宽虎, 李钰莹, 等. 外源植物激素对 NaCl 胁迫下苦马豆苗期脯氨酸代谢的影响[J]. 草业学报, 2014, 23(2): 189–195
Wang R M, Dong K H, Li Y Y, et al. Effects of applying exogenous plant hormone on proline metabolism of *Swainsonia salsula* seedlings under NaCl stress[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2014, 23(2): 189–195
- [5] 郭慧琴, 任卫波, 李平, 等. 2,4-表油菜素内酯和赤霉素互作对羊草种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 草业科学, 2014, 31(6): 1097–1103
Guo H Q, Ren W B, Li P, et al. Effect of epi-brassinosteroid and gibberellin on seed germination and seedling growth of *Leymus chinensis*[J]. Pratacultural Science, 2014, 31(6): 1097–1103
- [6] Bajguz A, Hayat S. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2009, 47(1): 1–8
- [7] Sharma I, Pati P K, Bhardwaj R. Effect of 2,4-epibrassinolide on oxidative stress markers induced by nickel-ion *Raphanus sativus* L.[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2011, 33(5): 1723–1735
- [8] Ahammed G J, Yuan H L, Ogwenio J O, et al. Brassinosteroid alleviates phenanthrene and pyrene phytotoxicity by increasing detoxification activity and photosynthesis in tomato[J]. Chemosphere, 2012, 86(5): 546–555
- [9] Talaat N B, Shawky B T, Ibrahim A S. Alleviation of drought-induced oxidative stress in maize (*Zea mays* L.) plants by dual application of 2,4-epibrassinolide and spermine[J]. Environmental and Experimental Botany, 2015, 113: 47–58
- [10] 王红红, 李凯荣, 侯华伟. 油菜素内酯提高植物抗逆性的研究进展[J]. 干旱地区农业研究, 2005, 23(3): 213–219
Wang H H, Li K R, Hou H W. Research progress of plant stress-resistance promoting related to brassinolides[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2005, 23(3): 213–219
- [11] Limón-Pacheco J, Gensebatt M E. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress[J]. Mutation Research, 2009, 674(1/2): 137–147
- [12] Seeta Ram Rao S, Vidya Vardhini B, Sujatha E, et al. Brassinosteroids — A new class of phytohormones[J]. Current Science, 2002, 82(10): 1239–1245
- [13] Manzano S, Martínez C, Megías Z, et al. The role of ethylene and brassinosteroids in the control of sex expression and flower development in *Cucurbita pepo*[J]. Plant Growth Regulation, 2011, 65(2): 213–221
- [14] 李凯荣, 王健, 贺秀贤. 天然油菜素内酯对五种牧草种子发芽和胚根下胚轴伸长的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2008, 26(1): 221–225
Li K R, Wang J, He X X. Effects of natural brassinolide on germination, radicle and hypocotyls elongation of five herbage seeds[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2008, 26(1): 221–225
- [15] 闫小红, 胡文海, 曾守鑫, 等. 低温胁迫下 2,4-表油菜素内酯对辣椒种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 华中农业大学学报, 2012, 31(5): 563–568
Yan X H, Hu W H, Zeng S X, et al. Effects of 2,4-epibrassinosteroids on the seed germination and seedling growth of pepper under low temperature stress[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2012, 31(5): 563–568
- [16] Shu H M, Guo S Q, Gong Y Y, et al. Effects of brassinosteroid on salinity tolerance of cotton[J]. Agricultural Basic Science and Technology, 2014, 15(9): 1433–1437
- [17] 贾洪涛, 张立富. 油菜素内酯提高小麦萌发期间抗盐性机理初探[J]. 临沂师范学院学报, 2001, 23(4): 58–59
Jia H T, Zhang L F. The initial study of salt tolerance mechanism increased by seed soaking of brassinolide during the germination of maize[J]. Journal of Linyi Teachers' College, 2001, 23(4): 58–59
- [18] 尚茂茂, 宋士清, 张志刚, 等. 外源 BR 诱导黄瓜(*Cucumis sativus* L.)幼苗的抗盐性[J]. 中国农业科学, 2006, 39(9): 1872–1877
Shang Q M, Song S Q, Zhang Z G, et al. Exogenous brassinosteroid induced the salt resistance of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2006, 39(9): 1872–1877
- [19] Özdemir F, Bor M, Demiral T, et al. Effects of 2,4-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidative system of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress[J]. Plant Growth Regulation, 2004, 42(3): 203–211
- [20] Saygideger S, Deniz F. Effect of 2,4-epibrassinolide on biomass, growth and free proline concentration in *Spirulina platensis* (Cyanophyta) under NaCl stress[J]. Plant Growth Regulation, 2008, 56(3): 219–223
- [21] Ding H D, Zhu X H, Zhu Z W, et al. Amelioration of salt-induced oxidative stress in eggplant by application of 2,4-epibrassinolide[J]. Biologia Plantarum, 2012, 56(4): 767–770
- [22] 寇江涛, 师尚礼. 2,4-表油菜素内酯对盐胁迫下紫花苜蓿种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 草原与草坪, 2015, 35(1): 1–8
Kou J T, Shi S L. Effect of 2,4-epibrassinolide on seed germination and seedling growth of *Medicago sativa* under salt stress[J]. Grassland and Turf, 2015, 35(1): 1–8
- [23] 闻玉, 赵翔, 张骁. 水分胁迫下一氧化氮对小麦幼苗根系生长和吸收的影响[J]. 作物学报, 2008, 34(2): 344–348
Wen Y, Zhao X, Zhang X. Effects of nitric oxide on root growth and absorption in wheat seedlings in response to water stress[J]. Acta Agronomica Sinica, 2008, 34(2): 344–348
- [24] 张晓磊, 刘晓静, 齐敏兴, 等. 混合盐碱对紫花苜蓿苗期根系特征的影响[J]. 中国生态农业学报, 2013, 21(3): 340–346
Zhang X L, Liu X J, Qi M X, et al. Alfalfa seedling root characteristics under complex saline-alkali stress[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2013, 21(3): 340–346

- [25] Chen C W, Yang Y W, Lur H S, et al. A novel function of abscisic acid in the regulation of rice (*Oryza sativa* L.) root growth and development[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2006, 47(1): 1–13
- [26] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000
Zou Q. *Plant Physiology Experiment Guidance*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000
- [27] 寇江涛, 师尚礼, 胡桂馨, 等. 牛角花齿蓟马为害对紫花苜蓿活性氧代谢的影响[J]. *核农学报*, 2013, 27(12): 1948–1954
Kou J T, Shi S L, Hu G X, et al. Effect of *Odontothrips loti* on reactive oxygen metabolism of *Medicago sativa*[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2013, 27(12): 1948–1954
- [28] Pompella A, Maellaro E, Casini A F, et al. Histochemical detection of lipid peroxidation in the liver of bromobenzene-poisoned mice[J]. *American Journal of Pathology*, 1987, 129(2): 295–301
- [29] Yamamoto Y, Kobayashi Y, Matsumoto H. Lipid peroxidation is an early symptom triggered by aluminum, but not the primary cause of elongation inhibition in pea roots[J]. *Plant Physiologists*, 2001, 125(1): 199–208
- [30] De Azevedo Neto A D, Prisco J T, Enéas-Filho J, et al. Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt-stress acclimation in maize plants[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2005, 162(10): 1114–1122
- [31] 寇江涛, 师尚礼, 胡桂馨. 牛角花齿蓟马为害对紫花苜蓿 AsA、GSH 含量及相关代谢酶活性的影响[J]. *应用昆虫学报*, 2013, 50(6): 1600–1607
Kou J T, Shi S L, Hu G X. The effect of *Odontothrips loti* damage on AsA, GSH content and metabolic enzyme activities in alfalfa plants[J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2013, 50(6): 1600–1607
- [32] 弋良朋, 王祖伟. 盐胁迫下 3 种滨海盐生植物的根系生长和分布[J]. *生态学报*, 2011, 31(5): 1195–1202
Yi L P, Wang Z W. Root system characters in growth and distribution among three littoral halophytes[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(5): 1195–1202
- [33] 陆晓民, 孙锦, 郭世荣, 等. 油菜素内酯对低氧胁迫黄瓜幼苗根系线粒体抗氧化系统及其细胞超微结构的影响[J]. *园艺学报*, 2012, 39(5): 888–896
Lu X M, Sun J, Guo S R, et al. Effects of brassinolide on the mitochondria antioxidant system and cellular ultrastructure of cucumber seedling roots under hypoxic stress[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2012, 39(5): 888–896
- [34] 周万海, 师尚礼, 寇江涛. 外源水杨酸对苜蓿幼苗盐胁迫的缓解效应[J]. *草业学报*, 2012, 21(3): 171–176
Zhou W H, Shi S L, Kou J T. Exogenous salicylic acid on alleviating salt stress in alfalfa seedlings[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2012, 21(3): 171–176
- [35] Asada K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions[J]. *Plant Physiology*, 2006, 141(2): 391–396
- [36] Noctor G, Foyer C H. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control[J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1998, 49(1): 249–279
- [37] 陈坤明, 宫海军, 王锁民. 植物谷胱甘肽代谢与环境胁迫[J]. *西北植物学报*, 2004, 24(6): 1119–1130
Chen K M, Gong H J, Wang S M. Glutathione metabolism and environmental stresses in plants[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2004, 24(6): 1119–1130
- [38] Lu S Y, Zhuo C L, Wang X H, et al. Nitrate reductase (NR)-dependent NO production mediates ABA- and H₂O₂-induced antioxidant enzymes[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014, 74: 9–15
- [39] Tanou G, Molassiotis A, Diamantidis G. Induction of reactive oxygen species and necrotic death-like destruction in strawberry leaves by salinity[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2009, 65(2/3): 270–281
- [40] Gegg M E, Beltran B, Salas-Pino S, et al. Differential effect of nitric oxide on glutathione metabolism and mitochondrial function in astrocytes and neurones: Implications for neuroprotection/neurodegeneration?[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2003, 86(1): 228–237
- [41] 周万海, 师尚礼, 寇江涛. 盐胁迫下外源 NO 对苜蓿幼苗生长及氮代谢的影响[J]. *应用生态学报*, 2012, 23(11): 3003–3008
Zhou W H, Shi S L, Kou J T. Effects of exogenous nitric oxide on the growth and nitrogen metabolism of alfalfa seedlings under salt stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(11): 3003–3008
- [42] Sadeghipour O, Monem R, Tajal A A. Production of mungbean (*Vigna radiata* L.) as affected by nitrogen and phosphorus fertilizer application[J]. *Journal of Applied Sciences*, 2010, 10(10): 843–847
- [43] Cernusak L A, Aranda J, Marshall J D, et al. Large variation in whole-plant water-use efficiency among tropical tree species[J]. *New Phytologist*, 2007, 173(2): 294–305
- [44] Wang X Z, Wang H, Wu F Z, et al. Effects of cinnamic acid on the physiological characteristics of cucumber seedlings under salt stress[J]. *Frontiers of Agriculture in China*, 2007, 1(1): 58–61
- [45] 廖岩, 彭友贵, 陈桂珠. 植物耐盐性机理研究进展[J]. *生态学报*, 2007, 27(5): 2077–2089
Liao Y, Peng Y G, Chen G Z. Research advances in plant salt-tolerance mechanism[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(5): 2077–2089
- [46] 孙珊珊, 安勳颖, 韩烈宝, 等. 外源 2,4-表油菜素内酯对多年生黑麦草幼苗耐盐性的影响[J]. *草地学报*, 2014, 22(5): 1045–1050
Sun S S, An M Y, Han L B, et al. Effects of exogenously applied 2,4-epibrassinolide on the seedlings of perennial ryegrass under NaCl stress[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2014, 22(5): 1045–1050