

王志科, 关伟龙, 李志伟, 等. 外源 $H_2O_2$ 对 NaCl 胁迫下豌豆种子萌发和幼苗抗氧化酶活性的影响[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(1): 31-38.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.01.003

## 外源 $H_2O_2$ 对 NaCl 胁迫下豌豆种子萌发和幼苗抗氧化酶活性的影响

王志科, 关伟龙, 李志伟, 孙于卜

(陇东学院生命科学与技术学院/甘肃省陇东生物资源保护利用与生态修复重点实验室, 甘肃 庆阳 745000)

**摘要:** 以豌豆种子为试验材料, 研究不同浓度(0 mmol/L, 5 mmol/L, 10 mmol/L, 20 mmol/L, 40 mmol/L 和 80 mmol/L)外源 $H_2O_2$ 对 170 mmol/L NaCl 溶液处理的豌豆种子萌发、幼苗生长及生理特性的影响。结果表明: 与 CK 相比, 170 mmol/L NaCl 处理的豌豆种子的萌发和幼苗生长都受到显著抑制, 发芽指标和生理指标均显著降低。在 170 mmol/L NaCl 胁迫下, 低浓度外源 $H_2O_2$ 浸种处理, 能够提高豌豆种子的发芽指标, 促进幼苗根和芽的生长, 促进脯氨酸和可溶性糖含量的积累, 降低丙二醛含量, 提高了根和芽中 SOD、CAT 和 POD 的活性。说明, 外源 $H_2O_2$ 能够通过调控渗透调节物质的积累和抗氧化酶活性来提高豌豆耐盐性, 其中外源 5 mmol/L  $H_2O_2$ 处理显著缓解 NaCl 胁迫对豌豆种子萌发和幼苗生长的毒害, 缓解效果最好。

**关键词:** 过氧化氢; 盐胁迫; 豌豆种子; 萌发; 生理特性

中图分类号: Q945.79 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2024)01-0031-08

## Effects of exogenous hydrogen peroxide on pea seed germination and seedling antioxidant enzyme activity under NaCl stress

WANG Zhi-ke, GUAN Wei-long, LI Zhi-wei, SUN Yu-bo

(College of Life Science and Technology, Longdong University/Gansu Key Laboratory of Protection and Utilization for Biological Resources and Ecological Restoration, Qingyang 745000, China)

**Abstract:** Pea seeds were used as test materials to study the effects of exogenous  $H_2O_2$  (0 mmol/L, 5 mmol/L, 10 mmol/L, 20 mmol/L, 40 mmol/L, and 80 mmol/L) on the germination, seedling growth and physiological characteristics under 170 mmol/L NaCl treatment. The results showed that compared with CK, seed germination and seedling growth were significantly inhibited under 170 mmol/L NaCl treatment, and both germination index and physiological index were significantly decreased. Under 170 mmol/L NaCl stress, seed soaking with low concentration of exogenous  $H_2O_2$  could improve the germination index of pea seeds, promote the growth of seedling roots and buds, promote the accumulation of proline and soluble sugar, decrease the content of malondialdehyde, and increase the activities of SOD, CAT and POD in roots and buds. The results showed that exogenous  $H_2O_2$  could improve salt tolerance of pea by regulating the accumulation of osmotic adjustment substances and antioxidant enzyme activity. Among them, 5 mmol/L  $H_2O_2$  significantly alleviated the toxicity of NaCl stress on seed germination and seedling growth, and the effect was the best.

**Key words:** hydrogen peroxide; salt stress; pea seeds; germination; physiological characteristics

收稿日期: 2023-01-08

基金项目: 甘肃省自然科学基金项目(21JR11RM042); 甘肃省高等学校创新基金项目(2021B-273); 陇东学院博士基金计划项目(XYBY202007)

作者简介: 王志科(1988-), 男, 宁夏吴忠人, 博士, 副教授, 主要从事植物逆境抗性研究。(E-mail) 378487542@qq.com

中国盐碱地总面积达 $9.913 \times 10^7 \text{ hm}^2$ , 主要分布在西北、华北、东北、滨海新区及长江中上游<sup>[1]</sup>。盐碱化导致植物体代谢受到影响, 同时促进毒害物质

积累、叶绿体分解、植物光合作用能力下降、有关酶活性降低致使有机物合成速率降低,从而影响植物体的正常发育,造成植株生长纤弱、滞育,阻碍了农业生产的发展<sup>[2]</sup>。研究结果表明,高盐浓度的土壤会抑制植物种子的萌发<sup>[3]</sup>,因此如何预防土壤盐碱化、科学治理盐碱地以及对已被盐碱侵蚀的土壤进行修复,成为当前国内外研究热点。

利用外源物质刺激植物体产生抗逆性反应来提高植物抵抗外界胁迫是有效路径之一。过氧化氢(Hydrogen peroxide,  $H_2O_2$ )是细胞有氧代谢的产物,也是植物体细胞内应答逆境胁迫的信号分子,广泛参与植物体的抗性反应<sup>[4]</sup>,且对植物体生理作用有双重性(迫害和保护),即低浓度 $H_2O_2$ 则会提高植物的抗逆性,而高浓度 $H_2O_2$ 会对植物体的生长发育起着抑制作用,甚至会导致植物体的死亡<sup>[5]</sup>。已有大量研究结果证明 $H_2O_2$ 能促进种子萌发:外源 $H_2O_2$ 浸种可以明显提高小白菜种子耐盐性<sup>[6]</sup>;过氧化氢浸种预处理通过降低 ABA 含量和提高 GA 含量来提高棉花种子萌发的耐盐性<sup>[7]</sup>;外源 $H_2O_2$ 浸种能增强皂角种子的萌发率<sup>[8]</sup>;过氧化氢浸种预处理可以明显缓解低温对花生种子的伤害<sup>[9]</sup>。

豌豆(*Pisum sativum* L.)是一年生或越年生草本植物<sup>[10]</sup>,也是世界上第四大食用豆类作物。中国是蔬菜豌豆主要生产国<sup>[11]</sup>,种植范围遍布全国多个省份,且豌豆是深受人们喜爱的豆类食品之一。在食品功效方面,研究发现豌豆具有抗氧化、降血压、免疫调节等作用<sup>[12]</sup>。近年,土壤安全问题越来越受到关注,其中土壤盐碱化成为全球热点问题。随着土壤盐碱化程度的增加,豌豆种子萌发和幼苗生长受到抑制,从而导致其产量和品质大幅度下降<sup>[13]</sup>。因而通过外源物质提高豌豆种子萌发对盐的耐受性<sup>[14]</sup>,缓解盐胁迫对豌豆种子萌发的毒害作用变得非常重要。目前有关外源 $H_2O_2$ 在豌豆抗盐方面的研究报道很少。因此,本试验研究外源 $H_2O_2$ 对豌豆种子萌发和幼苗生长盐胁迫的缓解机制,确定适宜的外源 $H_2O_2$ 浓度,旨在为农业生产中使用外源物质提高作物抗盐碱能力提供实践指导和理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

试验所用豌豆种子,由甘肃省陇东生物资源保护利用与生态修复重点实验室提供。氯化钠和

30%过氧化氢等药品均为分析纯。

### 1.2 试验设计与方法

1.2.1 NaCl 浓度的筛选 NaCl 溶液浓度设定参考达海兰<sup>[15]</sup>的方法,模拟盐胁迫。选择大小均一品质良好的豌豆种子,用 10 ml 含量 0.5%的 NaClO 溶液消毒 15 min,然后用自来水冲洗 3 次,用滤纸吸干种子表面的水分,将种子播于铺有双层滤纸的培养皿中,每只培养皿播 50 粒种子。分别取 10 ml 不同浓度(17 mmol/L、34 mmol/L、68 mmol/L、85 mmol/L、102 mmol/L、136 mmol/L、170 mmol/L)的 NaCl 溶液加入培养皿中,以蒸馏水为对照,共 8 个处理,每个处理重复 3 次,操作重复 3 次。将所有处理放于(25±1)℃恒温培养箱中培养。每日观察和统计发芽数,补充相应的溶液,7 d 后对其相关指数进行计算。

1.2.2 外源 $H_2O_2$ 浸种处理 由不同浓度 NaCl 溶液对豌豆种子的处理结果可知,170 mmol/L 浓度 NaCl 溶液胁迫效果最佳。选择大小均一、品质良好的豌豆种子,用 10 ml 含量 0.5%的 NaClO 溶液消毒 15 min,然后用自来水冲洗 3 次,用滤纸吸干种子表面的水分,分别用 170 mmol/L 浓度 NaCl 溶液及 5 mmol/L、10 mmol/L、20 mmol/L、40 mmol/L、80 mmol/L 浓度 $H_2O_2$ 溶液将豌豆种子浸种 8 h,同时以蒸馏水浸种为对照浸种相同时间。之后用蒸馏水冲洗 3 次,用滤纸吸干种子表面残留的水分,将种子分别放入铺有双层滤纸的培养皿中,每只培养皿放 50 粒种子,分别加入等量 170 mmol/L 浓度 NaCl 溶液。以蒸馏水为对照,共 7 个处理组,每组至少重复 3 次,操作重复 3 次。处理分别为 CK:蒸馏水;CG:170 mmol/L NaCl 溶液;T1:5 mmol/L  $H_2O_2$  溶液+170 mmol/L NaCl 溶液;T2:10 mmol/L  $H_2O_2$  溶液+170 mmol/L NaCl 溶液;T3:20 mmol/L  $H_2O_2$  溶液+170 mmol/L NaCl 溶液;T4:40 mmol/L  $H_2O_2$  溶液+170 mmol/L NaCl 溶液;T5:80 mmol/L  $H_2O_2$  溶液+170 mmol/L NaCl 溶液。

将所有处理放于(25±1)℃恒温培养箱培养。每日观察并统计发芽数,补充相应的溶液,7 d 后对其相关指数进行计算。此外,7 d 后取豌豆根和芽用于相关生理指标测定。

### 1.3 相关指数测定及方法

1.3.1 种子萌发期指标的测定 以根长大于 2 mm 作为豌豆种子发芽标准,种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数、抗盐性指数和根相对盐迫害率

计算参考李志萍等<sup>[16]</sup>的方法。

$$\text{发芽率} = (N_7/N) \times 100\%$$

式中,  $N_7$  为第 7 d 的发芽个数,  $N$  为所供试豌豆种子数。

$$\text{发芽势} = (N_3/N) \times 100\%$$

式中,  $N_3$  为第 3 d 发芽个数,  $N$  为所供试豌豆种子数。

$$\text{发芽指数}(G_i) = \sum G_i/D_i$$

式中,  $G_i$  为在时间  $t$  日的发芽数,  $D_i$  为发芽天数。

$$\text{活力指数} = S \times G_i$$

式中,  $S$  为幼苗平均根长,  $G_i$  为发芽指数。

$$\text{抗盐性指数} = (S \times G_i)^* / (S \times G_i) \times 100\%$$

式中,  $(S \times G_i)^*$  为 CG、T1~T5 处理活力指数,  $(S \times G_i)$  为 CK 活力指数。

$$\text{相对盐胁迫率} = (L - L^*) / L \times 100\%$$

式中,  $L^*$  为 CG、T1~T5 处理根长,  $L$  为 CK 根长。

1.3.2 各项生理指标的测定 种子的发芽试验结束后, 每组随机挑取 15 株豌豆苗, 用直尺和棉线测定幼苗的芽长和根长, 计算平均长度 (cm); 用千分之一天平称量芽鲜质量和根鲜质量, 计算平均值 (g)。

1.3.3 脯氨酸、可溶性糖和丙二醛含量的测定 脯氨酸、可溶性糖和丙二醛含量的测定参照李志萍等<sup>[16]</sup>的方法。

1.3.4 抗氧化酶活性的测定 待测液的提取: 用称量纸称取 0.1 g 待测品, 放入研钵中, 加入预冷的适量 50 mmol/L 磷酸缓冲溶液 (含有 5.0 mmol/L DTT、0.1 mmol/L EDTA、1% PVP, pH=7.0) 研磨充分, 迅

速转移到离心管中, 10 000 g 离心 15 min。去除离心管中沉淀即为所需酶液。

超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 和过氧化氢 (CAT) 测定参照李志萍等<sup>[16]</sup>的方法。

## 1.4 数据处理

利用 Microsoft Excel 2016 进行数据处理, 利用 SPSS 26.0 进行单因素方差分析, 利用 Duncan's 法进行多重比较及差异显著性分析 ( $\alpha=0.05$ )。表中数据为平均值  $\pm$  标准差。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度 NaCl 溶液对豌豆种子萌发的影响

由表 1 可知, 与 CK 相比, 17 mmol/L、34 mmol/L、68 mmol/L、85 mmol/L、102 mmol/L、136 mmol/L、170 mmol/L 浓度 NaCl 溶液处理豌豆种子的发芽率分别降低 14.74%、18.59%、21.72%、24.05%、24.81%、27.79% 及 48.82%; 发芽势分别降低了 14.14%、21.69%、50.03%、53.67%、56.99%、64.60% 及 75.52%; 根长分别降低了 5.35%、11.29%、11.68%、14.06%、16.63%、29.90% 及 47.13%; 发芽指数分别降低了 15.80%、17.32%、20.34%、21.94%、26.23%、39.08% 及 56.41%; 活力指数分别降低了 20.30%、26.66%、29.65%、31.99%、38.51%、57.30% 及 76.95%。与 CK 相比, 170 mmol/L 浓度 NaCl 溶液处理显著抑制了豌豆种子的发芽率、发芽势、根长、发芽指数及活力指数 ( $P<0.05$ ), 其对发芽率、根长、发芽指数的抑制程度为 50.0% 左右, 因此选择 170 mmol/L 浓度 NaCl 溶液作为豌豆盐胁迫的最佳浓度。

表 1 不同浓度 NaCl 溶液对豌豆种子萌发的影响

Table 1 Effects of different concentrations of NaCl on pea seed germination

| NaCl 溶液浓度 (mmol/L) | 发芽率 (%)            | 发芽势 (%)            | 根长 (cm)          | 发芽指数               | 活力指数               |
|--------------------|--------------------|--------------------|------------------|--------------------|--------------------|
| 0                  | 86.01 $\pm$ 2.01a  | 18.67 $\pm$ 1.16a  | 5.05 $\pm$ 0.33a | 28.17 $\pm$ 0.33a  | 142.26 $\pm$ 1.34a |
| 17                 | 73.33 $\pm$ 1.08ab | 16.03 $\pm$ 2.02a  | 4.78 $\pm$ 0.33b | 23.72 $\pm$ 0.77ab | 113.38 $\pm$ 2.69b |
| 34                 | 70.02 $\pm$ 0.31ab | 14.62 $\pm$ 3.11ab | 4.48 $\pm$ 0.31c | 23.29 $\pm$ 0.57ab | 104.34 $\pm$ 2.37c |
| 68                 | 67.33 $\pm$ 4.16b  | 9.33 $\pm$ 1.16bc  | 4.46 $\pm$ 0.58c | 22.44 $\pm$ 0.69bc | 100.08 $\pm$ 3.11c |
| 85                 | 65.32 $\pm$ 2.31b  | 8.65 $\pm$ 6.43bc  | 4.34 $\pm$ 0.23c | 21.99 $\pm$ 0.56bc | 96.75 $\pm$ 4.96d  |
| 102                | 64.67 $\pm$ 1.02b  | 8.03 $\pm$ 0.01bc  | 4.21 $\pm$ 0.33d | 20.78 $\pm$ 1.01bc | 87.48 $\pm$ 1.79e  |
| 136                | 62.11 $\pm$ 2.32b  | 6.61 $\pm$ 3.06c   | 3.54 $\pm$ 0.07e | 17.16 $\pm$ 0.46cd | 60.75 $\pm$ 2.01f  |
| 170                | 44.02 $\pm$ 1.01c  | 4.57 $\pm$ 3.06c   | 2.67 $\pm$ 0.75f | 12.28 $\pm$ 0.63d  | 32.79 $\pm$ 2.49g  |

同一列数据后不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。

## 2.2 外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对 NaCl 胁迫下豌豆种子萌发的影响

由表 2 可知,与 CK 相比,CG 处理显著抑制了豌豆种子的发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数 ( $P<0.05$ ),发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数分别降低了 48.84%、75.48%、56.41%、76.95%。与 CG 处理相比,T1~T4 处理豌豆种子的发芽率和发芽势显著提高 ( $P<0.05$ )。与 CG 处理相比,T1 处理

豌豆种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数分别提高了 105.13%、833.70%、201.38% 和 683.32%。随着H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度的增大,T1~T5 处理豌豆种子的萌发各项指标呈现先升高后降低的趋势。结果表明,外源 5 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理(T1)能有效缓解盐对豌豆种子萌发的抑制,并存在浓度效应,表现为在盐胁迫下,低浓度H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>促进豌豆种子萌发。

表 2 外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对 NaCl 胁迫下豌豆种子发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数的影响

Table 2 Effects of exogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on the germination rate, germination potential, germination index and viability index of pea seeds under NaCl stress

| 处理 | 发芽率 (%)     | 发芽势 (%)     | 发芽指数         | 活力指数         |
|----|-------------|-------------|--------------|--------------|
| CK | 86.04±2.02b | 18.64±1.16c | 28.17±0.33bc | 142.26±1.34b |
| CG | 44.02±4.01f | 4.57±3.06d  | 12.28±0.63e  | 32.79±2.49e  |
| T1 | 90.30±3.10a | 42.67±2.31a | 37.01±1.91a  | 256.85±0.80a |
| T2 | 81.33±2.31c | 41.02±2.01a | 36.65±0.94a  | 253.62±1.41a |
| T3 | 69.33±2.31d | 32.04±8.71b | 31.41±0.79b  | 76.64±0.40c  |
| T4 | 58.67±4.62e | 20.67±4.16c | 25.89±0.03c  | 55.92±0.62d  |
| T5 | 40.32±1.91f | 19.33±4.62c | 18.86±0.89d  | 25.46±0.52f  |

CK:蒸馏水;CG:170 mmol/L NaCl;T1:5 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+170 mmol/L NaCl;T2:10 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+170 mmol/L NaCl;T3:20 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+170 mmol/L NaCl;T4:40 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+170 mmol/L NaCl;T5:80 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+170 mmol/L NaCl。同一列数据后不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。

## 2.3 外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对 NaCl 胁迫下豌豆幼苗生长的影响

由表 3 可知,与 CK 相比,CG 处理豌豆幼苗的根长和芽长显著降低 ( $P<0.05$ ),根长和芽长分别降低了 47.13%、34.18%。随着H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度的增加,T1~T5 处理豌豆幼苗的根长呈现先增加后降低的趋势。其中 T1 处理缓解豌豆盐胁迫效果最佳,与 CG 处理

相比,T1 处理豌豆幼苗根长显著增加 159.93% ( $P<0.05$ )。T1~T5 处理豌豆幼苗的芽长呈现先增加后降低的趋势。其中 T1 处理缓解豌豆盐胁迫效果最好,与 CG 处理相比,T1 处理豌豆幼苗芽长显著增加 150.00%。

表 3 外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对 NaCl 胁迫下豌豆幼苗根长、芽长、根鲜质量及芽鲜质量的影响

Table 3 Effects of exogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on root length, bud length, root fresh weight, and bud fresh weight in pea seedlings under NaCl stress

| 处理 | 根长 (cm)    | 芽长 (cm)    | 根鲜质量 (mg)    | 芽鲜质量 (mg)   |
|----|------------|------------|--------------|-------------|
| CK | 5.05±0.33c | 1.58±0.51e | 36.78±0.12c  | 34.22±0.95c |
| CG | 2.67±0.75d | 1.04±0.24f | 28.44±0.04d  | 29.78±0.79d |
| T1 | 6.94±0.29a | 2.60±0.23a | 53.33±1.20a  | 62.44±0.51a |
| T2 | 6.02±0.23b | 2.39±0.26b | 50.44±0.05ab | 58.89±0.67b |
| T3 | 2.44±0.14d | 2.24±0.26c | 45.78±0.36b  | 57.67±0.76b |
| T4 | 2.16±0.28e | 1.83±0.27d | 36.01±0.11c  | 36.24±0.73c |
| T5 | 1.35±0.21f | 1.62±0.29e | 24.67±0.81e  | 25.78±0.33e |

CK、CG、T1、T2、T3、T4、T5 见表 2 注。同一列数据后不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。

由表 3 可知,与 CK 相比,CG 处理豌豆幼苗的根鲜质量和芽鲜质量显著降低 ( $P<0.05$ ),且根、芽

鲜质量分别降低了 22.68%、12.97%。随着H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度的增加,T1~T5 处理豌豆幼苗的根鲜质量呈现先



增加后降低的趋势。其中 T1 处理缓解盐胁迫的效果最好,与 CG 处理相比,T1 处理豌豆幼苗的根鲜质量显著增加 87.52% ( $P<0.05$ )。而 T5 处理豌豆幼苗的根鲜质量低于 CG 处理。T1~T5 处理豌豆幼苗的芽鲜质量呈现先增加后降低的趋势。与 CG 处理相比,T1、T2、T3 处理豌豆幼苗的芽鲜质量分别显著增加了 109.67%、97.75%、93.65% ( $P<0.05$ )。其中 T1 处理豌豆幼苗的芽鲜质量最高,而 T5 处理豌豆幼苗的芽鲜质量低于 CG 处理。表明外源 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 缓解盐胁迫存在浓度效应,表现为低浓度 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 促进豌豆幼苗生长。

## 2.4 外源 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对 NaCl 胁迫下豌豆种子萌发抗盐性指数和相对盐迫害率的影响

抗盐性指数是指种子萌发对不同浓度 NaCl 溶液的耐受能力。种子萌发后幼苗根长受盐胁迫的程度,称为根长相对盐迫害率。从表 4 可看出,CG 处理豌豆种子萌发的抗盐性指数为 CK 的 23.05% ( $P<0.05$ )。随着 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度的增加,T1~T5 处理豌豆种子萌发抗盐性指数不断降低 ( $P<0.05$ ),且 T1~T3 处理豌豆种子萌发抗盐性指数高于 CG 处理,其中 T1 处理豌豆种子萌发抗盐性指数最高,比 CG 处理显著提高了 683.30% ( $P<0.05$ )。T5 处理抗盐性指数最小,为 17.90%。随着 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度的增加,T1~T5 处理相对盐迫害率呈上升趋势,其中 T3~T5 处理相对盐迫害率高于 CG 处理,T1 处理相对盐迫害率最低,为 -37.43%,表明低浓度外源过氧化氢不仅能缓解盐胁迫对豌豆根造成的损伤,还能促进根的生长,这与表 3 的结果相一致。

表 4 外源 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理对 NaCl 胁迫下豌豆种子萌发抗盐性指数和相对盐迫害率的影响

Table 4 Effects of exogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment on salt tolerance index and relative salt damage rate in pea seeds under NaCl stress

| 处理 | 抗盐性指数 (%) | 相对盐迫害率 (%) |
|----|-----------|------------|
| CK | 100.00    | 0          |
| CG | 23.05     | 47.13      |
| T1 | 180.55    | -37.43     |
| T2 | 178.28    | -19.21     |
| T3 | 53.87     | 51.68      |
| T4 | 39.31     | 57.23      |
| T5 | 17.90     | 73.27      |

CK、CG、T1、T2、T3、T4、T5 见表 2 注。

## 2.5 外源 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对 NaCl 胁迫下豌豆幼苗渗透调节物质和丙二醛含量的影响

脯氨酸和可溶性糖是重要的渗透调节物质,其含量的高低直接影响植物体的抗逆性<sup>[9]</sup>。由表 5 可知,T1~T4 处理豌豆幼苗根和芽中脯氨酸和可溶性糖含量均高于 CG 处理,其中 T1 处理豌豆幼苗根和芽中脯氨酸含量和可溶性糖含量最高。相较于 CG 处理,T1 处理豌豆幼苗根和芽中脯氨酸含量分别提高了 40.00%、70.27%,可溶性糖含量分别提高了 21.03%、11.53%。

丙二醛是膜脂氧化的主要产物,其含量的高低可反映植物过氧化损伤的程度。由表 5 可知,与 CK 相比,CG 处理的豌豆幼苗根和芽中丙二醛含量显著升高 ( $P<0.05$ ),T1 处理豌豆幼苗的根和芽中丙二醛含量显著低于 CG 处理,说明低浓度 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理可明显缓解 NaCl 胁迫对豌豆组织的损伤,随着 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度的不断升高,作用缓慢削弱。各个处理相比较,T1 处理根和芽中丙二醛含量最低。

## 2.6 外源 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对 NaCl 胁迫下豌豆幼苗抗氧化酶活性的影响

由表 6 可知,与 CK 相比,CG 处理显著抑制了豌豆幼苗芽中 CAT 活性 ( $P<0.05$ ),T1 处理豌豆幼苗根和芽中 CAT 的活性最高。与 CG 相比,T1、T2 处理豌豆幼苗根和芽中 CAT 的活性显著提高 ( $P<0.05$ )。但高浓度的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理 CAT 活性降低。

由表 6 可知,与 CK 相比,CG 处理豌豆幼苗根和芽中的 SOD、POD 活性均显著提高 ( $P<0.05$ )。T1 处理豌豆幼苗根和芽中的 SOD、POD 活性最高,与 CG 处理相比分别提高了 45.53%、28.07%、21.06%、28.48% ( $P<0.05$ )。随着 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度的升高,豌豆幼苗根和芽中的 SOD、POD 活性均先升高后降低,但都高于 CK。

## 3 讨论

土壤盐渍化是全球农业生产过程中影响作物产量的因素之一,会导致植物体对养分的难以吸收、土壤板结造成植物体无法生长发育<sup>[17]</sup>。盐胁迫会直接影响种子的发芽和幼苗生长,进而会影响其后期的产量<sup>[18]</sup>。本研究结果表明,不同浓度 NaCl 溶液处理,豌豆种子的萌发均受到抑制。170 mmol/L 浓度 NaCl 溶液处理显著抑制了豌豆种子的发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数和幼苗的生长。这与

NaCl 处理对甜高粱<sup>[18]</sup>、小白菜<sup>[19]</sup>和油菜<sup>[20]</sup>种子萌发的影响一致。

表 5 外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对 NaCl 胁迫下豌豆幼苗根和芽中脯氨酸、可溶性糖及丙二醛含量的影响

Table 5 Effects of exogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on the contents of proline, soluble sugar and malondialdehyde in roots and shoots of pea seedlings under NaCl stress

| 处理 | 脯氨酸含量 (mg/g, FW) |             | 可溶性糖含量 (mg/g, FW) |             | 丙二醛含量 (mg/g, FW) |             |
|----|------------------|-------------|-------------------|-------------|------------------|-------------|
|    | 根                | 芽           | 根                 | 芽           | 根                | 芽           |
| CK | 0.37±0.03d       | 0.64±0.04d  | 2.61±0.07d        | 4.53±0.10e  | 2.90±0.02e       | 2.01±0.12e  |
| CG | 0.45±0.02c       | 0.74±0.04cd | 2.71±0.17c        | 4.77±0.22d  | 4.91±0.06a       | 2.93±0.05a  |
| T1 | 0.63±0.01a       | 1.26±0.05a  | 3.28±0.12a        | 5.32±0.15a  | 3.43±0.11d       | 2.14±0.07de |
| T2 | 0.58±0.01b       | 0.95±0.06b  | 2.95±0.07b        | 5.05±0.06b  | 3.64±0.07d       | 2.23±0.03c  |
| T3 | 0.53±0.02b       | 0.81±0.03c  | 2.78±0.05c        | 4.88±0.05c  | 4.23±0.08c       | 2.28±0.11c  |
| T4 | 0.49±0.03bc      | 0.79±0.03c  | 2.77±0.05c        | 4.86±0.09c  | 4.48±0.27b       | 2.64±0.06b  |
| T5 | 0.44±0.04c       | 0.73±0.03cd | 2.58±0.12d        | 4.64±0.11de | 4.86±0.13a       | 2.92±0.04a  |

CK、CG、T1、T2、T3、T4、T5 见表 2 注。同一列数据后不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。

表 6 外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对 NaCl 胁迫下豌豆根和芽中 CAT、SOD 和 POD 活性的影响

Table 6 Effects of exogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on CAT, SOD and POD activities in pea roots and shoots under NaCl stress

| 处理 | CAT 活性 (U/g) |             | SOD 活性 (U/g)  |               | POD 活性 (U/g) |              |
|----|--------------|-------------|---------------|---------------|--------------|--------------|
|    | 根            | 芽           | 根             | 芽             | 根            | 芽            |
| CK | 9.43±0.88bc  | 13.66±0.67c | 25.89±2.22g   | 39.79±2.80f   | 13.11±1.02e  | 12.44±0.70e  |
| CG | 7.55±0.69c   | 11.33±0.33d | 149.10±9.90c  | 186.65±11.45c | 22.03±0.34c  | 16.78±0.20bc |
| T1 | 12.78±0.39a  | 17.44±0.19a | 216.99±12.95a | 239.04±13.65a | 26.67±0.58a  | 21.56±0.34a  |
| T2 | 10.26±0.39b  | 15.22±0.19b | 200.04±11.75b | 210.66±12.94b | 24.78±0.69ab | 18.77±0.51b  |
| T3 | 8.44±0.38c   | 12.35±0cd   | 109.95±8.79d  | 150.69±9.06cd | 22.22±0.42b  | 15.33±0.39c  |
| T4 | 8.00±0.34c   | 9.89±0.20d  | 78.43±7.05e   | 112.16±8.88d  | 21.67±0.28cd | 14.77±0.39c  |
| T5 | 4.77±0.2d    | 6.77±0.51e  | 50.76±6.44f   | 69.61±7.42e   | 18.77±0.20d  | 13.78±0.88d  |

CK、CG、T1、T2、T3、T4、T5 见表 2 注。CAT:过氧化氢酶;SOD:超氧化物歧化酶;POD:过氧化物酶。同一列数据后不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>是一种重要的抗逆信号分子<sup>[21]</sup>,参与种子萌发、各种胁迫响应、植物生长发育和细胞程序性死亡等生理过程<sup>[22]</sup>。本研究结果表明,5 mmol/L浓度 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>能够显著缓解 NaCl 胁迫对豌豆种子的萌发和幼苗生长的抑制,并存在浓度效应,表现为低浓度促进。这与外源 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浸种能缓解 NaCl 胁迫对燕麦<sup>[23]</sup>、小白菜<sup>[19]</sup>和小麦<sup>[24]</sup>幼苗生长的抑制结果相一致。

非生物胁迫使活性氧的产生和清除机制失衡,造成自由基产生过多,膜脂氧化严重,最终对植物种子的萌发和幼苗生长造成伤害<sup>[25]</sup>。本研究发现,与 CK 相比,170 mmol/L浓度 NaCl 溶液处理(CG)显著抑制了豌豆幼苗中 CAT 的活性,提高了 SOD 和 POD 活性,这表明豌豆幼苗启动抗氧化酶系统来抵

抗更多活性氧的产生。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可以激活非生物胁迫下,植物细胞内抗氧化酶系统来抵抗更多活性氧对机体造成的伤害<sup>[21]</sup>。已有研究结果表明,在盐胁迫下,外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>提高了苦菜幼苗中 SOD、POD、CAT 和 APX 酶的活性及可溶性蛋白质、可溶性糖和脯氨酸含量,降低了细胞内H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和丙二醛含量<sup>[26]</sup>。外源 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>增强了盐胁迫下小白菜幼苗中 SOD、CAT 和 APX 的活性,降低丙二醛含量,以此来抵抗盐胁迫带来的氧化损伤<sup>[19]</sup>。本研究结果与前人的研究结果一致,表明H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>是参与豌豆抗氧化酶系统的重要信号分子。

植物在遭受非生物胁迫时,会发生渗透胁迫<sup>[27]</sup>。脯氨酸<sup>[28-32]</sup>和可溶性糖<sup>[33-35]</sup>是重要的细胞渗透调节物质,参与多种非生物胁迫<sup>[36]</sup>。已有研究

结果表明,在遭受碱胁迫后,水稻通过可溶性糖含量的变化,调节脯氨酸含量,来提高自身的抗逆性<sup>[37]</sup>。盐胁迫下,桑树叶片中的脯氨酸大量积累<sup>[38]</sup>。低温下,塔胞藻胞内的脯氨酸和可溶性糖含量增加<sup>[39]</sup>。NADPH 氧化酶介导的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>通过调节脯氨酸的生物合成和降解来减轻盐胁迫诱导的氧化损伤<sup>[40]</sup>。由NADPH 氧化酶产生的过氧化氢增加了拟南芥在盐或甘露醇胁迫过程中脯氨酸的积累<sup>[41]</sup>。本研究发现,与CG相比,外源5 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浸种能提高盐胁迫下豌豆幼苗中脯氨酸和可溶性糖含量,增强了细胞的渗透调节能力,提高了豌豆幼苗的抗盐能力。

## 4 结论

综上所述,与CG相比,外源5 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>能够显著提高豌豆幼苗中SOD、CAT和POD的活性,降低丙二醛含量,促进渗透调节物质的积累,减轻盐胁迫造成的氧化损伤,因此显著提高了豌豆种子萌发的耐盐性,促进其幼苗生长。

## 参考文献:

- [1] 江杰,王胜.我国盐碱地成因及改良利用现状[J].安徽农业科学,2020,48(13):85-87.
- [2] 朱建峰,杨秀艳,武海雯,等.植物种子萌发期耐盐碱性提高技术研究进展[J].生物技术通报,2020,36(2):158-168.
- [3] 班月圆.盐胁迫对不同地域桑种子萌发的影响及外源GA<sub>3</sub>和钙的缓解效应研究[D].镇江:江苏科技大学,2017.
- [4] 杨波,何俊瑜,任艳芳,等.过氧化氢对镉胁迫下水稻种子萌发的缓解效应[J].植物生理学报,2018,54(6):1111-1118.
- [5] 冯潇.过氧化氢对白沙蒿种子萌发的影响[D].兰州:兰州大学,2019.
- [6] 任艳芳,何俊瑜,杨军,等.外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对盐胁迫下小白菜种子萌发和幼苗生理特性的影响[J].生态学报,2019,39(20):7745-7756.
- [7] 孔祥强,罗振,张艳军,等.过氧化氢预处理促进盐胁迫下棉花种子萌发的效应[C]//棉花学报编辑部.2015年全国棉花青年学术研讨会论文汇编.北京:棉花学报编辑部,2015:22-23.
- [8] 黄珊.不同处理方法对皂角种子萌发的影响[J].防护林科技,2021(3):21-22.
- [9] 张雅婷.外源过氧化氢预处理对花生种子低温萌发的影响[D].合肥:安徽农业大学,2020.
- [10] 崔翠,孙建蓉,赵旭风,等.豌豆嫩尖几个营养品质性状的遗传多样性分析及其综合评价[J].植物遗传资源学报,2019,20(4):932-948.
- [11] 亚秀秀,杨东旭,周桂梅,等.豌豆种质资源耐盐性的鉴定与评价[J].四川农业大学学报,2022,40(4):505-511.
- [12] 孙冬阳,呼鑫荣,薛文通.豌豆功效成分及其生理活性的研究进展[J].食品工业科技,2019,40(2):316-320.
- [13] 徐芬芬,叶利民,夏晓蕾.小白菜抗盐胁迫的根系响应机制[J].干旱地区农业研究,2017,35(3):178-181.
- [14] 仇奕之,李宜坤,杨鹏军,等.甘氨酸对不同胁迫条件下高山离子芥试管苗的保护作用[J].兰州大学学报(自然科学版),2018,54(2):200-207.
- [15] 达海兰.盐胁迫对窄叶野豌豆种子萌发的影响[J].青海农技推广,2021(1):48-50.
- [16] 李志萍,张文辉,崔豫川.NaCl和Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>胁迫对栓皮栎种子萌发及幼苗生长的影响[J].生态学报,2015,35(3):742-751.
- [17] 唐鑫华,孟欣,石忆,等.表油菜素内酯对NaCl胁迫下马铃薯生长和块茎品质的影响[J].中国农业大学学报,2022,27(12):127-137.
- [18] 朱广龙,宋成钰,于林林,等.外源生长调节物质对甜高粱种子萌发过程中盐分胁迫的缓解效应及其生理机制[J].作物学报,2018,44(11):1713-1724.
- [19] 任艳芳,何俊瑜,杨军,等.外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对盐胁迫下小白菜种子萌发和幼苗生理特性的影响[J].生态学报,2019,39(20):7745-7756.
- [20] FANG Y, LI J, JIANG J, et al. Physiological and epigenetic analyses of Brassica napus seed germination in response to salt stress[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2017, 39(6):128.
- [21] NAZIR F, FARIDUDDIN Q, KHAN T A. Hydrogen peroxide as a signalling molecule in plants and its crosstalk with other plant growth regulators under heavy metal stress[J]. Chemosphere, 2020, 252:1-2.
- [22] CERNY M, HABÁNOVÁ H, BERKA M, et al. Hydrogen peroxide: its role in plant biology and crosstalk with signalling networks[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(9):1-30.
- [23] XU Q, XU X, ZHAO Y, et al. Salicylic acid, hydrogen peroxide and calcium-induced salinotolerance associated with endogenous hydrogen peroxide homeostasis in naked oat seedlings[J]. Plant Growth Regulation, 2008, 54(3):249-259.
- [24] LI J T, QIU Z B, ZHANG X W, et al. Exogenous hydrogen peroxide can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2011, 33(3):835-842.
- [25] SACHDEV S, ANSARI S A, ANSARI M I, et al. Abiotic stress and reactive oxygen species: generation, signaling, and defense mechanisms[J]. Antioxidants (Basel), 2021, 10(2):1-37.
- [26] 陈贵华,石岭,王萍,等.外源过氧化氢对苦菜耐盐生理作用的影响[J].内蒙古农业大学学报(自然科学版),2017,38(6):8-11.
- [27] NADARAJAH K K. ROS homeostasis in abiotic stress tolerance in plants[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(15):1-29.
- [28] 高彦强,颜建明,王成,等.外源脯氨酸对盐胁迫下芹菜生长及光合特性的影响[J].江西农业大学学报,2023,45(2):322-336.

- [29] 魏茜雅,林欣琪,梁腊梅,等.褪黑素引发处理提高朝天椒种子萌发及幼苗耐盐性的生理机制[J].江苏农业学报,2022,38(6):1637-1647.
- [30] 李海霞,米银法,陈双臣.干旱胁迫下 6 种观赏牡丹生理响应及耐旱性评价[J].江苏农业科学,2022,50(7):131-139.
- [31] 于雄胜,江振岳,张文英,等.谷子萌发及苗期生理生化指标对铅胁迫的响应[J].南方农业学报,2022,53(3):795-802.
- [32] 里程辉,王杰,王宏,等.淹水胁迫下不同中间砧对岳华苹果叶片和根系抗氧化酶、非酶类抗氧化物活性的影响[J].江苏农业科学,2022,50(11):130-135.
- [33] 李智博,董世满,曾长英,等.低温贮藏条件下木薯种茎可溶性糖与干旱胁迫耐受性的相关性研究[J].华南农业大学学报,2022,43(4):58-66.
- [34] 母洪娜,王炜,樊蕾,等.印度梨形孢对干旱胁迫下桂花生长及抗旱性的影响[J].南京林业大学学报(自然科学版),2023,47(2):101-106.
- [35] 李莉婕,赵泽英,黎瑞君,等.水氮钾耦合对火龙果产量和品质的调控效应[J].南方农业学报,2022,53(3):859-868.
- [36] WANI K I, NAEEM M, CASTROVERDE C D M, et al. Molecular mechanisms of nitric oxide(NO) signaling and reactive oxygen species(ROS) homeostasis during abiotic stresses in plants[J]. International Journal of Molecular Sciences,2021,22(17):1-21.
- [37] 赵海新.碱胁迫对水稻叶绿素及叶片脯氨酸和可溶性糖含量的影响[J].作物杂志,2020(1):98-102.
- [38] 傅聿青,贾漫丽,王军,等.NaCl胁迫下 2 个桑树品种的脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白含量变化研究[J].林业与生态科学,2018,33(3):306-310.
- [39] 王以斌,缪锦来,姜英辉,等.脯氨酸和可溶性糖在南极冰藻低温适应机制中的作用[J].生物技术通报,2016,32(2):198-202.
- [40] LIU L, HUANG L, LIN X, et al. Hydrogen peroxide alleviates salinity-induced damage through enhancing proline accumulation in wheat seedlings[J]. Plant Cell Reports,2020,39(5):567-575.
- [41] BEN-REJEB K, LEFEBVRE-DE V D, LE-DISQUET I, et al. Hydrogen peroxide produced by NADPH oxidases increases proline accumulation during salt or mannitol stress in *Arabidopsis thaliana* [J]. New Phytologist,2015,208(4):1138-1148.

(责任编辑:成纾寒)