

DOI:10.11686/cyxb2025330

<http://cyxb.magtech.com.cn>

杨金辉, 王晓彤, 马永龙, 等. 喷施纳米氧化铈对紫花苜蓿幼苗耐盐性的影响. 草业学报, 2026, 35(8): 45—54.

YANG Jin-hui, WANG Xiao-tong, MA Yong-long, *et al.* Effect of CeO₂ NPs on the salt tolerance of alfalfa seedlings. Acta Prataculturae Sinica, 2026, 35(8): 45—54.

喷施纳米氧化铈对紫花苜蓿幼苗耐盐性的影响

杨金辉, 王晓彤, 马永龙, 余冬雯, 童玉花, 李淑霞*

(宁夏大学林业与草业学院, 宁夏银川 750021)

摘要:以‘中苜1号’紫花苜蓿为材料,采用叶面喷施 50 mg·L⁻¹ 二氧化铈纳米颗粒(CeO₂ NPs)溶液进行处理,再用 300 mmol·L⁻¹ 盐胁迫处理幼苗 10 d,通过测定幼苗生长、光合、膜脂过氧化、抗氧化系统和渗透调节物质等指标,综合评价 CeO₂ NPs 对紫花苜蓿幼苗耐盐性的影响。结果表明,盐胁迫显著抑制了紫花苜蓿幼苗的生长,降低了其生物量和光合作用,增加了活性氧的积累。在盐胁迫下,喷施 CeO₂ NPs 显著缓解了盐胁迫对紫花苜蓿幼苗的损伤,促进了幼苗的生长和生物量的增加,提高了紫花苜蓿的相对含水量和光合作用。此外,喷施 CeO₂ NPs 处理明显降低了盐胁迫下紫花苜蓿的相对电导率、丙二醛(MDA)、过氧化氢(H₂O₂)和超氧阴离子(·O₂⁻)积累,同时升高了超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性以及可溶性糖和脯氨酸含量,与单独盐胁迫处理相比分别提高了 20.0%、29.9%、41.4% 和 54.3%, 39.4% 和 16.5%。综合表明, CeO₂ NPs 通过增强紫花苜蓿的抗氧化酶活性、促进渗透调节物质积累,降低过氧化损伤,从而促进植株的光合作用和生长,最终增强紫花苜蓿的耐盐性。

关键词: 二氧化铈纳米颗粒; 盐胁迫; 紫花苜蓿; 光合变化; 生理响应

Effect of CeO₂ NPs on the salt tolerance of alfalfa seedlings

YANG Jin-hui, WANG Xiao-tong, MA Yong-long, YU Dong-wen, TONG Yu-hua, LI Shu-xia*

College of Forestry and Prataculture, Ningxia University, Yinchuan 750021, China

Abstract: The aim of this work was to determine whether treatment with cerium dioxide nanoparticles (CeO₂ NPs) increases the salt tolerance of alfalfa (*Medicago sativa*). A 50 mg·L⁻¹ solution of CeO₂ NPs was applied by foliar spraying to ‘Zhongmu No. 1’ alfalfa seedlings, and the seedlings were then subjected to a 10-day salt stress treatment with 300 mmol·L⁻¹ NaCl. A range of parameters, including growth, photosynthetic characteristics, membrane lipid peroxidation, antioxidant enzyme activities, and osmotic regulatory substance contents were measured to comprehensively evaluate the effect of CeO₂ NPs on the salt tolerance of alfalfa plants. Salt stress significantly inhibited seedling growth, reduced biomass, and photosynthetic capacity, and increased reactive oxygen species accumulation. When plants in the control group and those sprayed with CeO₂ NPs were subjected to the salt treatment, those in the treatment group showed significantly milder symptoms of salt damage, increased seedling growth and biomass accumulation, and higher relative water content and photosynthetic performance. Under salt stress, the plants sprayed with CeO₂ NPs exhibited significantly reduced relative conductivity, malondialdehyde content, and hydrogen peroxide and superoxide anion accumulation, and elevated activities of superoxide dismutase

收稿日期:2025-08-14;改回日期:2025-10-22

基金项目:国家自然科学基金(U24A20426)和宁夏自然科学基金(2023AAC05019)资助。

作者简介:杨金辉(2000—),男,甘肃宁县人,在读硕士。E-mail: 1678026718@qq.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: lishuxia620@163.com

(SOD), ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT), and peroxidase (POD), as well as increased soluble sugar and proline contents. Specifically, in the CeO₂ NPs-treated plants compared with control plants, the SOD, APX, CAT, and POD activities were increased by 20.0%, 29.9%, 41.4%, and 54.3%, respectively, while the soluble sugar and proline contents were increased by 39.4% and 16.5%, respectively, under salt stress. Collectively, these results show that CeO₂ NPs promote photosynthesis and growth by enhancing antioxidant enzyme activities, promoting the accumulation of osmoprotectants, and decreasing oxidative damage, thereby enhancing alfalfa's salt tolerance.

Key words: cerium dioxide nanoparticles; salt stress; alfalfa; photosynthetic changes; physiological response

土壤盐渍化是由自然过程和人类活动共同引发的主要环境问题之一,已对农业可持续发展构成严重威胁。数据显示,截至2022年,全球受盐渍化危害的土地面积已约8亿hm²,且仍呈逐年递增趋势^[1]。我国盐渍化土壤总面积约为3600万hm²,其中盐碱化耕地面积为760万hm²,占可利用土地的4.88%^[2]。盐胁迫会引发植物在形态、生理生化及分子水平上的一系列变化,严重抑制植物生长并降低其生产力。其危害主要体现在两个方面:一是土壤渗透势下降所引起的渗透胁迫;二是由离子毒害效应造成的离子胁迫^[3]。此外,盐胁迫还常伴随氧化应激[如活性氧(reactive oxygen)积累]以及营养与激素平衡失调等次生胁迫^[4],进一步显著影响作物产量^[5]。尤其对多数非耐盐植物而言,盐胁迫对种子萌发和幼苗生长的抑制更为显著,常引起发芽率下降、植株生长迟缓、叶片失绿等现象,严重时甚至植株整体枯黄萎蔫,最终丧失生产力^[6]。因此,在上述多重胁迫的共同影响下,探索有效的耐盐性提升途径,已成为当前农业与生态领域的重要研究课题。

紫花苜蓿(*Medicago sativa*)是种植广泛的多年生豆科牧草,适应性强、蛋白含量高、适口性好、耐刈割且易于消化,被誉为“牧草之王”与“饲料皇后”^[7]。其根系发达,常被用作盐碱地改良。尽管紫花苜蓿具有一定的耐盐能力,但高浓度盐胁迫仍会明显抑制其种子萌发与幼苗生长,破坏光合作用和渗透调节等生理过程,导致蛋白质含量与适口性下降,并降低其对病害及其他逆境的抗性^[8]。因此,开发有效提升紫花苜蓿耐盐性的新方法,并培育耐盐新品种,对盐碱地的可持续利用具有重要意义。

近年来,纳米颗粒(nanoparticles, NPs)的应用已成为逆境胁迫下改善植物生长与品质最有前途的方法之一^[9]。纳米材料由尺寸不超过100 nm的组分构成,其小尺寸效应常赋予其更高的反应活性和生化潜能。NPs可影响植物生长发育的多个阶段,包括种子萌发与幼苗建成^[10]。多项研究表明,纳米材料能够有效缓解盐胁迫对植物的抑制作用:例如,纳米二氧化硅处理可通过增强抗氧化酶活性,减轻盐胁迫对玉米(*Zea mays*)种子萌发的影响^[11];纳米Fe₃O₄浸种也能改善番茄(*Solanum lycopersicum*)在盐胁迫下的发芽表现,与其抗氧化系统的显著增强密切相关^[12]。Kalteh等^[13]报道,盐胁迫下施加纳米二氧化硅可提高罗勒(*Ocimum basilicum*)的叶绿素与脯氨酸含量;Wang等^[14]发现纳米氧化锌能增强小麦(*Triticum aestivum*)的抗氧化酶系统,进而提升其耐盐能力。此外,Hussain等^[15]研究表明,在镉胁迫下,纳米硅可激活小麦的过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)与超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)等抗氧化酶活性,改善气孔导度与蒸腾速率,促进光合作用,最终促进幼苗生长。在各类纳米材料中,二氧化铈纳米颗粒(CeO₂ NPs)在增强植物抗逆性方面也显示出潜力。马锦旭^[16]发现,CeO₂ NPs悬浮液能够缓解低温对油菜(*Brassica napus*)种子萌发的抑制;Zhou等^[17]报道其可通过促进一氧化氮生成与增强抗氧化酶活性,提高水稻(*Oryza sativa*)的耐盐性;Wu等^[18]的研究进一步表明,CeO₂ NPs可增加盐胁迫下拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的叶绿素含量与生物量,增强光合作用,从而改善植株整体的耐盐能力。

目前,有关CeO₂ NPs对紫花苜蓿耐盐性的影响还未见报道,其调控机制也不清楚。鉴于纳米材料在提升植物抗逆性方面的应用潜力,本研究通过外源喷施CeO₂ NPs,探究其对盐胁迫下紫花苜蓿幼苗生理生长特性的影响,阐明其耐盐性调控机制,为纳米材料在牧草抗逆性方面的应用提供理论依据,助力紫花苜蓿盐碱地的高效种植。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验所用‘中苜1号’紫花苜蓿种子由宁夏大学牧草育种实验室保存,二氧化铈纳米颗粒(粒径70~100 nm,纯度99.9%)来源于博华斯纳米科技(宁波)有限公司。

1.2 试验设计与方法

1.2.1 试验设计 预试验浓度筛选:通过设置由1、5、10、50、100 mg·L⁻¹的CeO₂ NPs悬浊液与300 mmol·L⁻¹ NaCl溶液组合的7个处理组(包括空白对照与单独盐胁迫对照),旨在筛选出缓解紫花苜蓿盐胁迫的最适CeO₂ NPs浓度。结果表明,50 mg·L⁻¹为最适浓度。正式试验:基于预试验结果,正式试验设立对照(CK)、50 mg·L⁻¹ CeO₂ NPs(CeO₂ NPs)、300 mmol·L⁻¹ NaCl(salt)、50 mg·L⁻¹ CeO₂ NPs+300 mmol·L⁻¹ NaCl(CeO₂ NPs+salt)4个处理组。每个处理设置3次重复。

1.2.2 试验方法 于2025年4月在宁夏大学牧草育种实验室进行了二氧化铈纳米颗粒悬浊液的配制:称取二氧化铈纳米颗粒置于蒸馏水中,充分摇晃后将其放置于超声波中,超声30 min使其充分悬浊。材料培养:将紫花苜蓿种子消毒后,于4℃冰箱中春化2 d,随后转移至人工气候箱中,在昼/夜温度25℃/20℃、湿度60%、16 h光照/8 h黑暗及5000 lx光强的条件下进行发芽。待发芽7 d后,选取健康幼苗移栽至蛭石中,每2 d浇灌一次Hoagland营养液,培养35 d后用于试验处理。采用叶面喷施法,每次每株喷施2~3 mL CeO₂ NPs(约合每组25 mL)直至叶面近滴水,连续喷施3 d。对照组及单独盐处理组则喷施等量蒸馏水。喷施结束后,所有组别(除CK与CeO₂ NPs组外)均进行300 mmol·L⁻¹ NaCl的盐胁迫处理。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 生长指标测定 用刻度尺测量紫花苜蓿株高,用游标卡尺测量紫花苜蓿茎粗。采集不同处理下紫花苜蓿植株的地上、地下部称鲜重,105℃杀青30 min,65℃烘至恒重后测其干重。

1.3.2 生理指标测定 相对含水量(relative water content, RWC)测定:取植物地上部分,迅速称取鲜重,然后将样品放入蒸馏水中浸泡12 h至饱和,称其饱和鲜重,烘干至恒重后再测干重。计算公式如下: $RWC = (\text{鲜重} - \text{干重}) / (\text{饱和鲜重} - \text{干重}) \times 100\%$ 。叶绿素含量通过SPAD法,使用叶绿素仪(SPAD-502Plus,日本Konica Minolta公司)对不同处理同一位置的紫花苜蓿叶片进行测定,重复3次后取均值。使用产自德国Heinz Walz GmbH公司的叶绿素荧光成像系统(WALZ)测定最大光化学效率(F_v/F_m)。参照常静静^[19]的方法测定相对电导率(relative electrical conductivity, REC),并稍有改动,具体步骤如下:1)称取0.2 g叶片样品用剪刀剪碎放入50 mL塑料离心管中,并准确加入20 mL去离子水,浸没叶片;2)将其放置在摇床上25℃振荡1 h,然后在20~25℃条件下用电导仪(DDSContig307,上海仪电科学仪器股份有限公司)测定溶液的电导率,记录为 C_1 ;3)放入100℃沸水浴中煮沸15 min,以杀死植物组织,取出放入冷水中冷却10 min,后在20~25℃条件下测其煮沸电导率,记录为 C_2 ;根据 $REC = C_1/C_2 \times 100\%$ 计算相对电导率。依据索莱宝公司商品化试剂盒说明书测定丙二醛(malondialdehyde, MDA)、过氧化氢(hydrogen peroxide, H₂O₂)、超氧阴离子(superoxide anion, O₂⁻)含量, SOD、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)、CAT、POD活性以及可溶性糖和脯氨酸(proline, Pro)含量。参照李燕辉^[20]的方法进行3,3'-二氨基联苯胺(3,3'-diaminobenzidine, DAB)和硝基四氮唑蓝(nitroblue tetrazolium, NBT)组织化学染色,并稍有改动,将0.05 g DAB和0.1 g NBT分别溶解于50 mL蒸馏水和50 mL 50 mmol·L⁻¹磷酸缓冲液(pH=7.5)中,然后将紫花苜蓿叶片浸泡在新制备的染色溶液中,室温下黑暗保存过夜。倒掉染色液,用去离子水清洗叶片,用95%的乙醇煮沸去除叶片叶绿素,最后进行拍照。

1.4 数据分析

使用SPSS 19.0统计软件,以单因素ANOVA的Tukey法作多重比较, Pearson法分析相关性, GraphPad prism 10完成绘图。

2 结果与分析

2.1 不同浓度CeO₂ NPs对盐胁迫下苜蓿幼苗生长的影响

1~100 mg·L⁻¹ CeO₂ NPs对紫花苜蓿在盐胁迫下的各项生长指标和叶绿素含量有不同程度的缓解作用(图1),其中10和100 mg·L⁻¹ CeO₂ NPs显著提高了根长、茎粗和地上鲜重。然而,相比于盐胁迫,50 mg·L⁻¹ CeO₂ NPs可显著提升紫花苜蓿幼苗的株高、根长、茎粗、地上和地下鲜重、SPAD值($P < 0.05$),表明50 mg·L⁻¹ CeO₂ NPs为缓解盐胁迫对紫花苜蓿损伤的最适浓度。因此,本研究选择50 mg·L⁻¹ CeO₂ NPs开展后续试验。

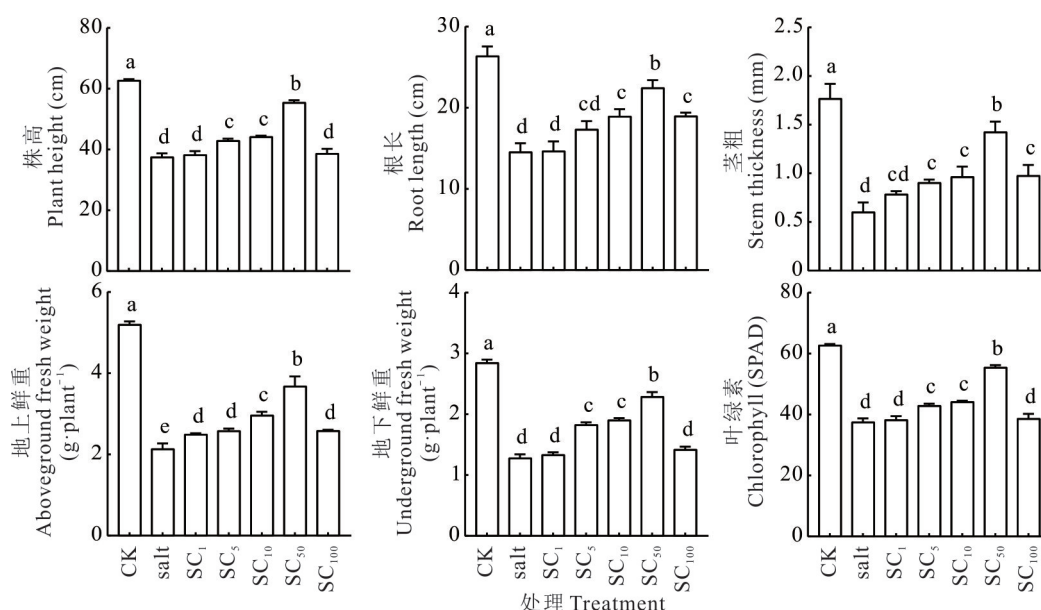


图1 喷施不同浓度CeO₂纳米颗粒溶液对盐胁迫下苜蓿幼苗生长的影响

Fig. 1 Effect of sprayed CeO₂ nanoparticles concentration on the growth of alfalfa seedlings under salt stress

SC₁、SC₅、SC₁₀、SC₅₀、SC₁₀₀处理分别表示1、5、10、50、100 mg·L⁻¹ CeO₂ NPs喷施后统一用300 mmol·L⁻¹ NaCl进行处理。不同字母表示处理间差异显著($P < 0.05$),下同。SC₁, SC₅, SC₁₀, SC₅₀, and SC₁₀₀ treatments represent the application of 1, 5, 10, 50, and 100 mg·L⁻¹ CeO₂ NPs, respectively, followed by uniform treatment with 300 mmol·L⁻¹ NaCl. Different letters indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$), the same below.

2.2 不同浓度CeO₂ NPs对盐胁迫下苜蓿幼苗生长的影响

正常条件下,喷施CeO₂ NPs对紫花苜蓿幼苗的生长指标无显著影响(图2)。在盐胁迫条件下,紫花苜蓿幼苗叶片出现了明显的萎蔫发黄,而喷施CeO₂ NPs对盐胁迫造成的危害产生了明显的缓解作用。相应地,盐胁迫处理显著降低了紫花苜蓿的株高、茎粗、地上和地下生物量,而喷施CeO₂ NPs后显著提高了植株的株高、茎粗和生物量(图2)。这些结果表明,CeO₂ NPs能在一定程度上阻遏盐胁迫对紫花苜蓿幼苗生长的抑制。

2.3 不同浓度CeO₂ NPs对盐胁迫下苜蓿幼苗水分与光合的影响

紫花苜蓿幼苗的相对含水量在对照和单独喷施CeO₂ NPs处理之间无显著差异($P > 0.05$,图3)。盐胁迫致使紫花苜蓿幼苗的相对含水量显著下降,而CeO₂ NPs喷施明显缓解了盐胁迫下相对含水量的降低。与对照相比,喷施CeO₂ NPs对紫花苜蓿幼苗叶片的叶绿素含量无显著影响($P > 0.05$);盐胁迫处理后,紫花苜蓿幼苗叶片的叶绿素含量显著降低,但喷施CeO₂ NPs后叶绿素含量显著高于单独盐处理($P < 0.05$,图3B)。类似地,单独喷施CeO₂ NPs对紫花苜蓿幼苗叶片的PS II最大光化学效率(F_v/F_m)无显著影响,但盐胁迫显著降低了 F_v/F_m ,而salt+CeO₂ NPs喷施处理明显提高了 F_v/F_m ,与盐胁迫处理相比提高了40.78%(图3C)。叶片热成像图中CK和CeO₂ NPs组叶片呈均匀的蓝紫色,温度分布均一;salt组叶片有明显的黄橙色高温区;salt+CeO₂ NPs组黄橙色区域大幅减少,蓝紫色区域增多,说明二氧化铈纳米颗粒能缓解盐胁迫导致的叶片局部升温(图3D)。结果表明,叶面喷施CeO₂ NPs可以提高盐胁迫下紫花苜蓿的相对含水量和光合作用。

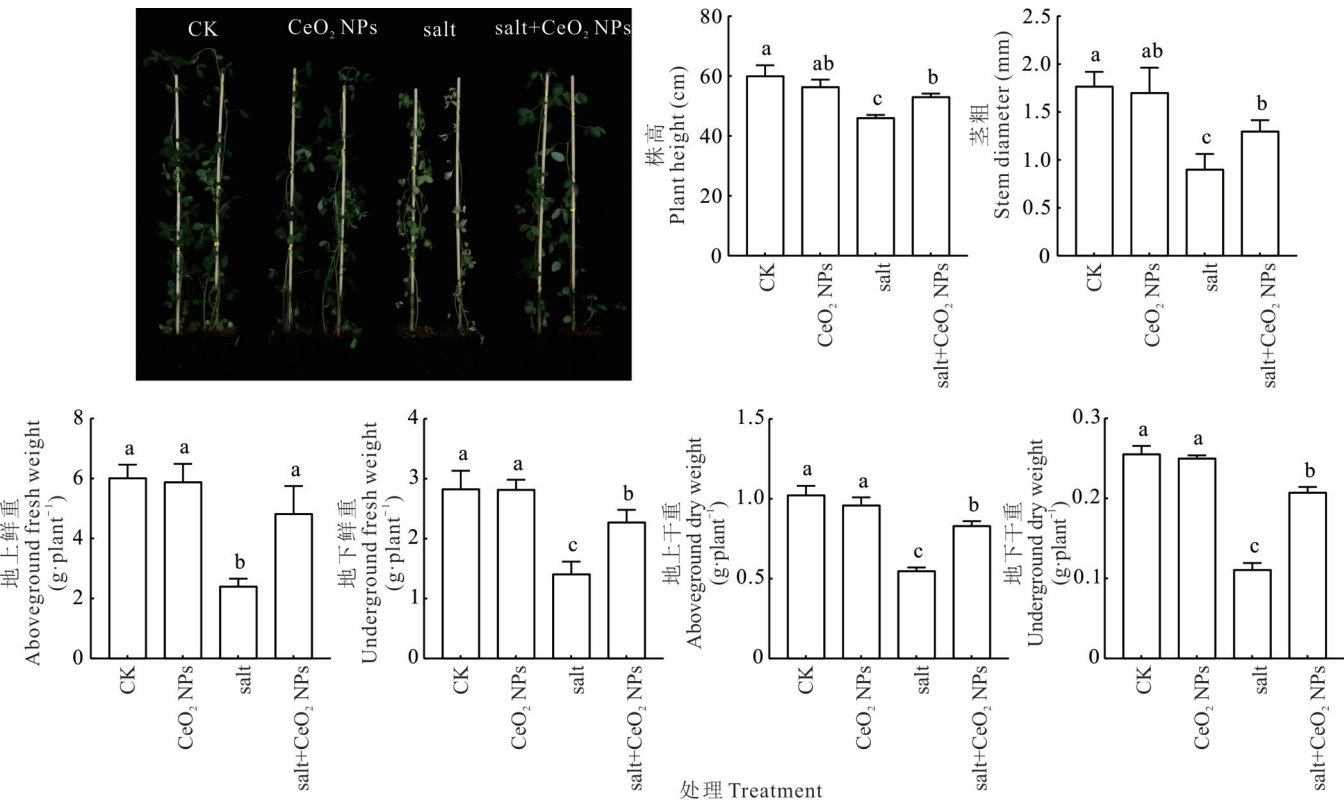


图 2 喷施 CeO_2 纳米颗粒溶液对盐胁迫下紫花苜蓿幼苗生长的影响
Fig. 2 Effect of CeO_2 nanoparticles spraying treatment on alfalfa seedling growth under salt stress

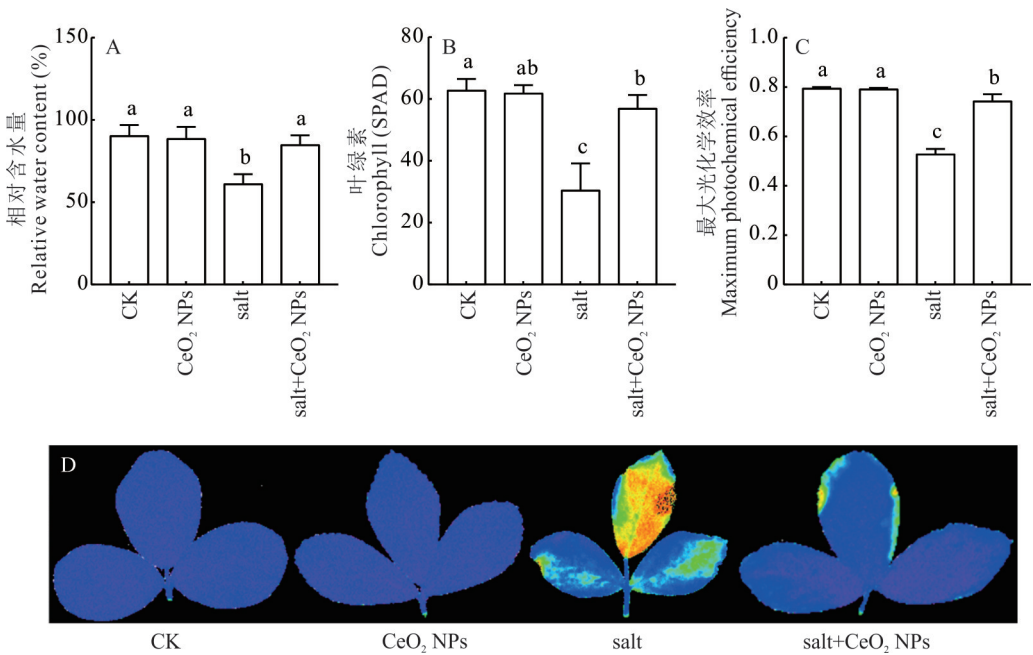


图 3 喷施 CeO_2 纳米颗粒溶液对盐胁迫下紫花苜蓿幼苗相对含水量和光合作用的影响
Fig. 3 Effect of CeO_2 nanoparticles spraying treatment on relative water content and photosynthesis in alfalfa seedlings under salt stress

2.4 不同浓度 CeO_2 NPs 对盐胁迫下苜蓿细胞膜损伤的影响

与对照组相比,单独喷施 CeO_2 NPs 处理对紫花苜蓿幼苗的相对电导率和 MDA 含量无显著影响($P>0.05$, 图 4)。在盐胁迫处理后,相对电导率显著升高,而 salt+ CeO_2 NPs 处理使得相对电导率显著降低,比单独盐处理

组降低了33.7%(图4A)。盐胁迫处理导致紫花苜蓿的MDA含量显著升高,与对照相比升高了148.2%,而salt+CeO₂ NPs喷施处理的MDA含量比单独盐胁迫处理显著降低了29.2%(图4B)。这表明,喷施CeO₂ NPs可通过降低紫花苜蓿的细胞膜损伤提高其耐盐性。

2.5 不同浓度CeO₂ NPs对盐胁迫下苜蓿ROS积累的影响

紫花苜蓿幼苗的H₂O₂和·O₂⁻含量在单独喷施CeO₂ NPs处理和对照组之间无显著差异($P>0.05$,图5),但盐胁迫处理显著增加了H₂O₂和·O₂⁻的积累,与对照组相比分别增加了239.4%和1482.2%。然而,salt+CeO₂ NPs喷施处理紫花苜蓿幼苗的H₂O₂和·O₂⁻积累与单独盐胁迫处理相比分别降低了47.5%和64.8%。进一步利用DAB和NBT染色分析各种处理下紫花苜蓿幼苗H₂O₂和·O₂⁻的分布情况(图5),对照组和单独喷施CeO₂ NPs的叶片染色较浅且无明显差异,但盐胁迫处理后紫花苜蓿的叶片染色较深,积累了较多的H₂O₂和·O₂⁻,而salt+CeO₂ NPs喷施处理后,叶片H₂O₂-DAB反应产生的黄褐色沉淀区域、·O₂⁻-NBT反应产生的蓝色沉淀区域均面积更小、颜色更浅,表明在盐胁迫下喷施CeO₂ NPs减少了叶片中H₂O₂和·O₂⁻的积累。

2.6 不同浓度CeO₂ NPs对盐胁迫下苜蓿抗氧化酶系统的影响

与对照组相比,喷施CeO₂ NPs处理对紫花苜蓿幼苗叶片中的SOD、APX、CAT和POD活性均无显著影响($P>0.05$,图6)。在盐胁迫处理条件下,紫花苜蓿叶片中的SOD、APX、CAT和POD活性均显著升高,分别比对照组增加了46.5%、185.4%、210.7%和160.0%。相比于单独盐胁迫,叶面施用CeO₂ NPs后紫花苜蓿幼苗叶片的SOD、APX、CAT和POD活性分别显著提高了20.0%、29.9%、41.4%和54.3%。由此可见,盐胁迫下叶面喷施CeO₂ NPs处理可以增强紫花苜蓿抗氧化系统酶的活性,进而提高对ROS的清除能力以缓解盐胁迫对紫花苜蓿幼苗的氧化损伤。

2.7 不同浓度CeO₂ NPs对盐胁迫下苜蓿渗透调节物质的影响

单独喷施CeO₂ NPs处理下的紫花苜蓿幼苗的可溶性糖含量与对照组相比没有显著差异($P>0.05$,图7),而

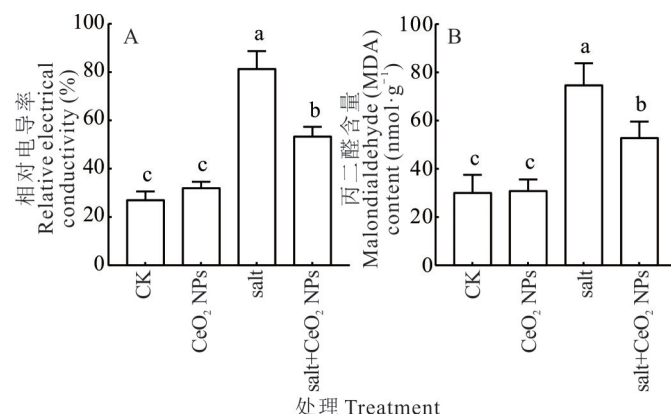


图4 喷施CeO₂纳米颗粒溶液对盐胁迫下紫花苜蓿幼苗相对电导率与丙二醛含量的影响

Fig. 4 Effect of CeO₂ nanoparticles spraying treatment on relative electrical conductivity (REC) and malondialdehyde (MDA) content of alfalfa seedlings under salt stress

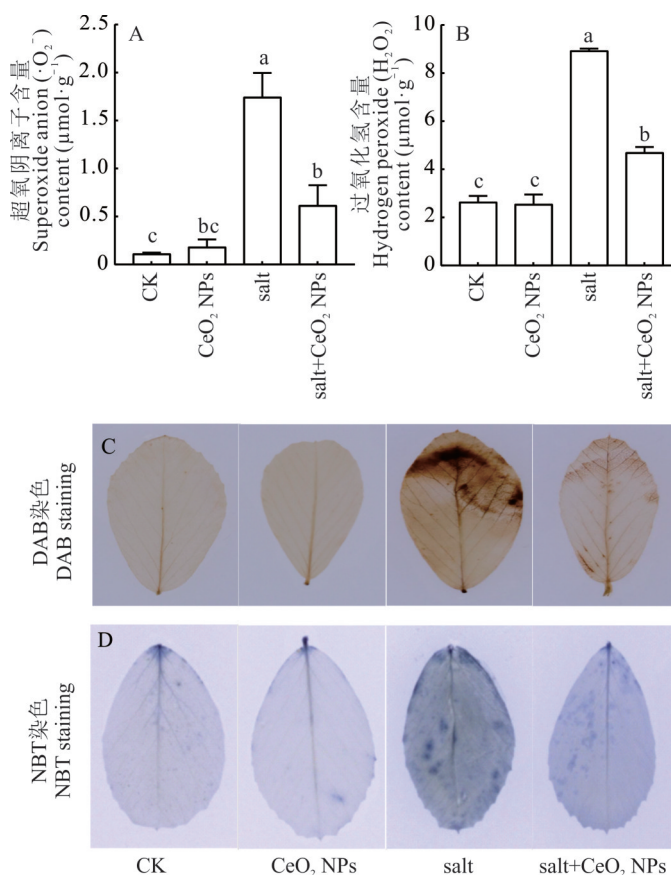


图5 喷施CeO₂纳米颗粒溶液对盐胁迫下紫花苜蓿幼苗活性氧积累的影响

Fig. 5 Effect of CeO₂ nanoparticles spraying treatment on reactive oxygen species accumulation in alfalfa seedlings under salt stress

DAB: 3,3'-二氨基联苯胺 3,3' diaminobenzidine; NBT: 硝基四氮唑蓝 Nitroblue tetrazolium.

盐胁迫处理下的可溶性糖含量显著升高,比对照组升高了 136.9%。在盐胁迫条件下,叶面喷施 CeO_2 NPs 的紫花苜蓿可溶性糖含量显著增加,比单独盐胁迫处理组提高了 39.4%。在盐胁迫下,脯氨酸含量显著升高, salt+ CeO_2 NPs 处理的脯氨酸含量比单独盐胁迫处理提高了 16.5%。以上结果表明,盐胁迫后叶面喷施 CeO_2 NPs 可以通过提高植株的可溶性糖和脯氨酸含量提高紫花苜蓿的耐盐性。

3 讨论

盐胁迫是制约全球牧草生长与产量的关键因素之一,会导致植物发育受阻、叶片失水、光合能力下降及生物量显著降低,严重时甚至造成植株死亡^[21]。在农业纳米技术中^[22], CeO_2 NPs 因其出色的活性氧清除能力,在缓解作物非生物胁迫方面展现出广泛的应用潜力^[23]。 CeO_2 NPs 已被验证可增强拟南芥^[24]、棉花(*Gossypium hirsutum*)^[25]、油菜^[26]等植物的抗逆性。Djanaguiraman 等^[27]的研究表明, CeO_2 NPs 可增强干旱胁迫下高粱(*Sorghum bicolor*)的光合性能,促进其生物量积累与增产。同理,叶面喷施该颗粒可显著提升盐胁迫下水稻的生物量和耐盐能力^[17]。在本研究中,发现叶面喷施 CeO_2 NPs 改善了盐胁迫下紫花苜蓿幼苗的生长状况,提高了植株的株高、茎粗、鲜重和干重(图 2),表明叶面喷施 CeO_2 NPs 可以显著提升紫花苜蓿幼苗的生长。

盐胁迫会抑制植物的光合性能,导致光化学活性下降,具体表现为叶绿素含量与荧光参数(如 F_v/F_m)降低^[28]。叶绿素及其荧光参数是反映植物光能利用效率和光合活性的重要指标^[29]。本研究中,盐胁迫显著降低了紫花苜蓿的叶绿素含量与 F_v/F_m ,而叶面喷施 CeO_2 NPs 后则使盐胁迫下这两项指标维持在较高水平(图 3),说明 CeO_2 NPs 有助于缓解盐胁迫对光合系统的损伤。李燕辉^[20]研究发现, CeO_2 NPs 能提升盐胁迫下油菜的叶绿素含量,增强抗氧化能力以保护叶绿体结构;秦中维等^[30]研究表明, CeO_2 NPs 处理可维持辣椒(*Capsicum annuum*)在盐胁迫下的实际光化学效率(F_v'/F_m')。以上结果表明, CeO_2 NPs 可通过维持叶绿素含量、改善光化学效率来增强植物的光合能力,进而提高其在盐胁迫下的抗逆性。

ROS 具有强氧化性与植物信号传导功能,其过量积累源于植物逆境胁迫的次生影响^[31],从而引发氧化损伤,主要包括羟自由基($\cdot\text{OH}$)、过氧化氢(H_2O_2)、单线态氧($^1\text{O}_2$)和超氧阴离子($\cdot\text{O}_2^-$)等^[32]。为了应对环境胁迫所产生的活性氧过度积累带来的氧化胁迫,植物进化出了抗氧化防御机制,其中包括抗氧化酶(如 SOD、CAT、POD 和 APX 等)和非酶抗氧化物质[如抗坏血酸(ascorbic acid, ASA)和谷胱甘肽(glutathione, GSH)等]^[25]。已有研究表明,二氧化铈纳米颗粒具备类似抗氧化酶的特性,能够快速清除 ROS 的积累以提升植物的耐盐能力^[33]。多项

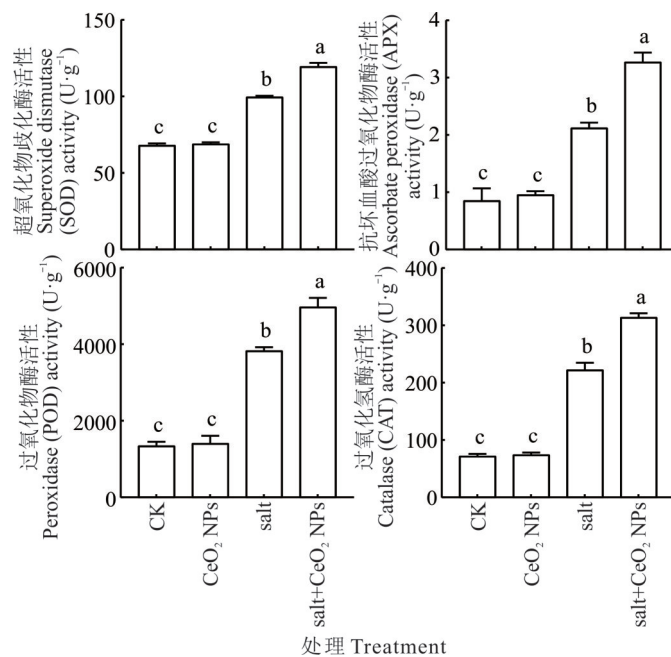


图 6 喷施 CeO_2 纳米颗粒溶液对盐胁迫下紫花苜蓿幼苗抗氧化酶系统的影响

Fig. 6 Effect of CeO_2 nanoparticles spraying treatment on the antioxidant enzyme system of alfalfa seedlings under salt stress

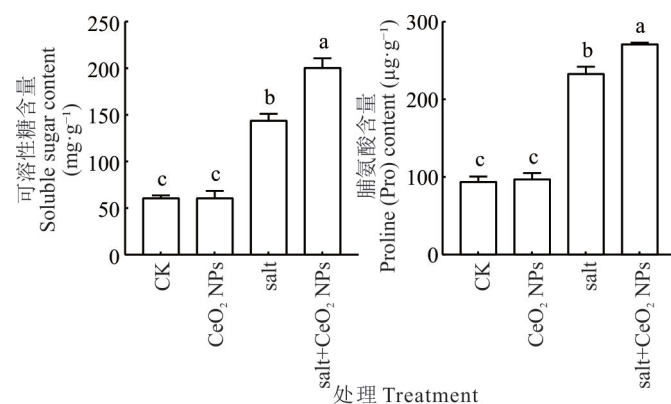


图 7 喷施 CeO_2 纳米颗粒溶液对盐胁迫下紫花苜蓿幼苗渗透调节物质的影响

Fig. 7 Effect of CeO_2 nanoparticles spraying treatment on osmotic regulatory substances in alfalfa seedlings under salt stress

研究表明,二氧化铈纳米颗粒可协同降低棉花、油菜等植物在盐胁迫下的ROS水平,同时提升抗氧化酶的基因表达与活性,从而增强种子的发芽能力,提升植物耐盐性^[34-35]。在本研究中,同样观察到CeO₂ NPs处理降低了盐胁迫下紫花苜蓿幼苗叶片的H₂O₂和·O₂⁻含量,DAB和NBT的染色结果与其相契合(图5)。同时,CeO₂ NPs处理提高了盐胁迫下紫花苜蓿叶片的SOD、POD、CAT和APX活性(图6),这表明CeO₂ NPs可通过直接清除与酶促降解两种途径,共同降低ROS过量积累造成的氧化损伤,从而提升紫花苜蓿的耐盐性。

可溶性糖和脯氨酸的积累可作为植物抗逆性的重要指标^[36]。逆境胁迫下,植物可溶性糖含量升高,有助于提高细胞的渗透压,防止细胞失水,缓解不同胁迫对植物的负面影响。脯氨酸是植物中的一种重要渗透调节物质,逆境下植物大量积累脯氨酸,既可调节细胞渗透势,维持水分,又能清除过量的ROS。Gholamreza等^[37]研究发现CeO₂ NPs可通过增加脯氨酸含量,稳定盐胁迫下葡萄(*Vitis vinifera*)的叶片结构与渗透平衡;同时,经其处理的种子,可增强盐胁迫下油菜种子的α-淀粉酶活性,促进糖分积累^[38]。同样地,本研究中,叶面喷施CeO₂ NPs显著提高了盐胁迫下紫花苜蓿幼苗叶片中可溶性糖与脯氨酸的含量(图7)。这两种物质的协同积累,共同增强了细胞的渗透调节与氧化保护能力。综上,CeO₂ NPs可通过促进渗透调节物质的积累,有效提升紫花苜蓿的耐盐性。目前CeO₂ NPs在紫花苜蓿上的应用尚处于研究探索阶段,其安全性、有效性及最佳使用方法需深入研究。因大田条件复杂多变,田间与实验室结果常不一致,故实际应用中需严格按科学方法和剂量操作,并通过田间试验验证其在农田环境的应用效果。

4 结论

本研究证实,喷施50 mg·L⁻¹CeO₂ NPs可有效缓解紫花苜蓿幼苗的盐胁迫损伤,显著促进其生长并提高生物量。其作用机制在于激发幼苗的抗氧化酶活性、促进渗透调节物质积累,从而减轻叶片的氧化应激,维持细胞膜结构和光合作用稳定性,最终增强紫花苜蓿的耐盐性。

参考文献 References:

- [1] Li J G, Pu L J, Zhu M, *et al.* The present situation and hot issues in the salt-affected soil research. *Acta Geographica Sinica*, 2012, 67(9): 1233—1245.
李建国, 濮励杰, 朱明, 等. 土壤盐渍化研究现状及未来研究热点. *地理学报*, 2012, 67(9): 1233—1245.
- [2] Zhang K, Li M N, Cao S H, *et al.* The research advances of molecular mechanisms of plant in responding to salt stress. *Acta Agrestia Sinica*, 2017, 25(2): 226—235.
张昆, 李明娜, 曹世豪, 等. 植物盐胁迫下应激调控分子机制研究进展. *草地学报*, 2017, 25(2): 226—235.
- [3] Hassan E, Hanideh F, Muhammad R. Interactions of nanoparticles and salinity stress at physiological, biochemical and molecular levels in plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 225: 112769.
- [4] Kumar M, Etesami H, Kumar V, *et al.* Saline soil-based agriculture by halotolerant microorganisms. Singapore: Springer, 2019.
- [5] Parul P, Samiksha S, Rachana S, *et al.* Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22(6): 4056—4075.
- [6] Pan J, Huang C H, Luo J, *et al.* Effects of salt stress on plant and the mechanism of arbuscular mycorrhizal fungi enhancing salt tolerance of plants. *Advances in Earth Science*, 2018, 33(4): 361—372.
潘晶, 黄翠华, 罗君, 等. 盐胁迫对植物的影响及AMF提高植物耐盐性的机制. *地球科学进展*, 2018, 33(4): 361—372.
- [7] Xu J Y, Shi X L, Li X, *et al.* Analysis of domestic current situation of *Medicago sativa* L. mixed planting. *Modern Agriculture Research*, 2024, 30(5): 107—111.
徐静怡, 石昕岚, 李勋, 等. 国内紫花苜蓿混播研究现状分析. *现代农业研究*, 2024, 30(5): 107—111.
- [8] Sun P B, Wang Z J, Ggentu, *et al.* Research progress of alfalfa salt and alkali stress tolerance and mitigation measures. *Northern Horticulture*, 2023(21): 131—137.
孙鹏波, 王志军, 格根图, 等. 紫花苜蓿耐盐碱胁迫与缓解措施的研究进展. *北方园艺*, 2023(21): 131—137.
- [9] Ahmad I, Akhtar M S. Use of nanoparticles in alleviating salt stress//Salt stress, microbes, and plant interactions: Causes and solution. Singapore: Springer, 2019: 199—215.

- [10] Faisal Z, Muhammad A. Nanoparticles potentially mediate salt stress tolerance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2021, 160(3): 257–268.
- [11] Deyala M N, Hanan A. Metabolic status during germination of nano silica primed *Zea mays* seeds under salinity stress. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 2019, 22(11): 415–423.
- [12] Chen S Y, Lu Y, Wu S F, *et al.* Effects of seed soaking in Fe_3O_4 nanoparticle on tomato seed germination and seedling protective enzyme system under saline stress. *Acta Pedologica Sinica*, 2024, 61(4): 1166–1178.
陈思远, 鲁尧, 武思凡, 等. 纳米级 Fe_3O_4 分散液浸种对 NaCl 胁迫下番茄种子萌发及幼苗保护酶系统的影响. *土壤学报*, 2024, 61(4): 1166–1178.
- [13] Kalteh M, Alipour Z T, Ashraf S, *et al.* Effect of silica nanoparticles on basil (*Ocimum basilicum*) under salinity stress. *Journal of Chemical Health Risks*, 2014, 4(8): 49–55.
- [14] Wang Z S, Li H, Li X N, *et al.* Nano-ZnO priming induces salt tolerance by promoting photosynthetic carbon assimilation in wheat. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2020, 66(9): 1259–1273.
- [15] Hussain A, Rizwan M, Ali Q, *et al.* Seed priming with silicon nanoparticles improved the biomass and yield while reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat grains. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26(1): 7579–7588.
- [16] Ma J X. Mechanism of nano cerium oxide seed priming in promoting seed germination of rapeseed under low temperature stress. Hefei: Anhui Agricultural University, 2024.
马锦旭. 纳米氧化铈引发促进低温胁迫下油菜种子萌发的机制研究. 合肥: 安徽农业大学, 2024.
- [17] Zhou H, Wu H H, Zhang F, *et al.* Molecular basis of cerium oxide nanoparticle enhancement of rice salt tolerance and yield. *Environmental Science. Nano*, 2021, 8(11): 3294–3311.
- [18] Wu H, Zhang X, Giraldo J P, *et al.* It is not all about sodium: Revealing tissue specificity and signalling roles of potassium in plant responses to salt stress. *Plant and Soil*, 2018, 431(8): 1–17.
- [19] Chang J J. Identification of melatonin synthesis genes in watermelon and signaling mechanism of melatonin regulation of cold resistance. Yangling: Northwest A&F University, 2021.
常静静. 西瓜褪黑素合成基因鉴定及褪黑素调控抗冷性的信号传导机制. 杨凌: 西北农林科技大学, 2021.
- [20] Li Y H. Study on improving rapeseed salt tolerance trough cerium oxide nanoparticles. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2021.
李燕辉. 氧化铈纳米颗粒提升油菜耐盐性的研究. 武汉: 华中农业大学, 2021.
- [21] Basit F, Bhat J A, Ulhassan Z, *et al.* Seed priming with spermine mitigates chromium stress in rice by modifying the ion homeostasis, cellular ultrastructure and phytohormones balance. *Antioxidants*, 2022, 11(9): 1704.
- [22] Fukagawa N K, Ziska L H. Rice: Importance for global nutrition. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 2019, 65(10): S2–S3.
- [23] Wu H H, Shabala L, Shabala S, *et al.* Hydroxyl radical scavenging by cerium oxide nanoparticles improves *Arabidopsis* salinity tolerance by enhancing leaf mesophyll potassium retention. *Environmental Sciences: Nano*, 2018, 5(7): 1567.
- [24] Wu H H, Tito N, Giraldo J P, *et al.* Anionic cerium oxide nano-particles protect plant photosynthesis from abiotic stress by scavenging reactive oxygen species. *ACS Nano*, 2017, 11(11): 11283–11297.
- [25] Liu J H, Li G J, Chen L L, *et al.* Cerium oxide nanoparticles improve cotton salt tolerance by enabling better ability to maintain cytosolic K^+/Na^+ ratio. *Journal of Nanobiotechnology*, 2021, 19(5): 153.
- [26] Li Y H, Liu J H, Fu C C, *et al.* CeO_2 nanoparticles modulate Cu-Zn superoxide dismutase and lipoxygenase-IV isozyme activities to alleviate membrane oxidative damage to improve rape-seed salt tolerance. *Environmental Sciences Nano*, 2022, 9(3): 1116–1132.
- [27] Djanaguiraman M, Nair R, Giraldo J R, *et al.* Cerium oxide nan-oparticles decrease drought-induced oxidative damage in sorghum leading to higher photosynthesis and grain yield. *ACS Omega*, 2018, 3(10): 14406–14416.
- [28] Wang Q Z, Liu Q, Gao Y N, *et al.* Review on the mechanisms of the response to salinity-alkalinity stress in plants. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(16): 5565–5577.
王佳珍, 刘倩, 高娅妮, 等. 植物对盐碱胁迫的响应机制研究进展. *生态学报*, 2017, 37(16): 5565–5577.
- [29] Li Y H, Lin R C. Advances in the regulation mechanism of chlorophyll synthesis. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2024, 36(9): 1141–1148.
李玉红, 林荣呈. 叶绿素合成调控研究进展. *生命科学*, 2024, 36(9): 1141–1148.

- [30] Qin Z W, Wei Q Y, Liang L M, *et al.* Effects of cerium oxide nanoparticles seed priming on growth and physiological characteristics, and expression of stress resistance genes in pepper plants under salt stress. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2024, 40(9): 1719—1730.
秦中维, 魏茜雅, 梁腊梅, 等. 氧化铈纳米颗粒引发处理对盐胁迫下辣椒植株生长、生理特性及相关耐盐基因表达的影响. *江苏农业学报*, 2024, 40(9): 1719—1730.
- [31] Zhu J K. Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, 2016, 167(2): 313—324.
- [32] Li X, Ahammed G J, Zhang X N, *et al.* Melatonin-mediated regulation of anthocyanin biosynthesis and antioxidant defense confer tolerance to arsenic stress in *Camellia sinensis* L. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 403(2): 123922.
- [33] Corsi F, Deidda T G, Urbani M, *et al.* The impressive anti-inflammatory activity of cerium oxide nanoparticles: More than redox? *Nanomaterials*, 2023, 13(20): 2803.
- [34] An J, Hu P G, Li F J, *et al.* Emerging investigator series: Molecular mechanisms of plant salinity stress tolerance improvement by seed priming with cerium oxide nanoparticles. *Environmental Sciences Nano*, 2020, 7(8): 2214—2228.
- [35] Lorenzo R, Weilan Z, Leonardo L, *et al.* The impact of cerium oxide nanoparticles on the salt stress responses of *Brassica napus* L. *Environmental Pollution*, 2016, 219(12): 28—36.
- [36] El-badri A M, Batool M, Mohamed I A, *et al.* Modulation of salinity impact on early seedling stage via nano-priming application of zinc oxide on rapeseed (*Brassica napus* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 2021, 166(9): 376—392.
- [37] Gholamreza G, Elnaz Z, Havzhin R, *et al.* Protective effects of cerium oxide nanoparticles in grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. *Flame* seedless under salt stress conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 220(9): 112402.
- [38] Khan M N, Li Y, Khan Z, *et al.* Nanoceria seed priming enhanced salt tolerance in rapeseed through modulating ROS homeostasis and α -amylase activities. *Journal of Nanobiotechnology*, 2021, 276(9): 1—9.