

文章编号: 1000-5692(2006)01-0019-05

土壤盐胁迫下桉木 8 个无性系生理特性的变化

王树凤, 陈益泰, 潘红伟, 吴天林

(中国林业科学研究院 亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400)

摘要: 以不同质量分数的盐(NaCl)胁迫对桉木 *Alnus cremastogyne* 8 个无性系, 在盆栽条件下测定叶片中丙二醛质量摩尔浓度、超氧化物歧化酶活性、可溶性蛋白质量分数和叶绿素质量分数的变化。结果表明: 桉木无性系的耐盐性由于盐胁迫质量分数的不同以及自身的遗传特性而存在显著差异, 在 $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 盐胁迫下, 耐盐性从强到弱排序为 $X_{42} > S_{17} > M_{19} > D_5 > N_{22} > D_{10} > A_6 > A_1$; 在 $4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 盐胁迫下, M_{19} 和 S_{17} 耐盐性较强, A_6 最弱; 而当盐质量分数达 $6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, M_{19} , S_{17} 和 D_5 耐盐性较强, A_6 依然最弱。经过对生理指标以及生长状况的综合评价, 初步筛选出 M_{19} 和 D_5 2 个耐盐性较好的桉木无性系, 其次为 S_{17} 。表 2 参 13

关键词: 植物生理学; 盐胁迫; 桉木; 膜脂过氧化; 超氧化物歧化酶

中图分类号: S718 **文献标识码:** A

土壤的盐碱化是全球性的问题, 也是制约植树造林的一个重要因素。我国盐碱地分布广泛, 尚有大片的海涂资源有待开发, 而营造各种功能林是开发海涂资源的有效措施之一。桉木 *Alnus cremastogyne* 属桦木科 Betulaceae 落叶乔木^[1], 生长迅速, 适应性强; 根系发达, 对土壤要求不严; 耐水湿, 具根瘤, 是护岸固堤、改良土壤的优良树种。研究表明^[2], 桉木种源以及无性系之间在生长、抗冻性等方面都存在显著差异, 但对桉木无性系耐盐性的研究至今还未见报道。作者对桉木 8 个无性系在盐胁迫下的生理反应进行了研究, 目的在于明确桉木无性系对盐碱胁迫的反应差异, 为筛选桉木耐盐无性系及其在盐碱地的引种提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试苗木

供试 8 个桉木无性系为安 56 号(A_1), 安 28 号(A_6), 都江堰 062 号(D_5), 都江堰 033 号(D_{10}), 石柱 9929 号(S_{17}), 沐川 9913 号(M_{19}), 南江 9926 号(N_{22}), 西充 9903 (X_{42})。选用 1.5 年生扦插苗(平均苗高为 1.0 m, 平均胸径 2.1 cm), 于 2004 年 9 月定植于直径 20 cm 花盆中, 每盆 1 株, 栽培基质为壤土, 自然光照。在生长期, 视土壤干湿状况, 2~4 d 浇水 1 次。

1.2 盐胁迫处理

分别以土壤在干燥状态下盐(NaCl)质量分数为 2, 4 和 $6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理桉木 8 个无性系, 分 3 个小区, 每个小区包括 3 组处理和 1 组对照, 每个无性系每组处理 3 次重复, 共 6 株苗木。每盆植物底部

收稿日期: 2005-03-28; 修回日期: 2005-08-04

基金项目: 浙江省科学技术重点攻关项目(001102205)

作者简介: 王树凤, 助理研究员, 从事植物生物技术等研究。E-mail: wsfhgy@etang.com

均套塑料袋,以防盐分渗漏。

1.3 分析测定

在盐胁迫处理1周后测定桉木新鲜叶片叶绿素质量分数、可溶性蛋白质量分数、超氧化物歧化酶(SOD)活性以及丙二醛(MDA)质量摩尔浓度。测定方法均参照《现代植物生理学实验指南》^[3],同时对各无性系的生长状况(包括叶片枯萎程度和落叶数量)进行综合评价。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对桉木无性系 SOD 活性和 MDA 质量摩尔浓度的影响

SOD 是植物体内清除自由基的重要酶系统之一,主要作用是清除由胁迫而产生的大量自由基。由于这些自由基可以对细胞原生质尤其是膜结构造成伤害,因此胁迫下 SOD 活性对保护细胞免受伤害,提高原生质忍耐能力具有重要意义。实验证明,在正常情况下,植物体内的 SOD 活性会维持在一个正常的水平,当植物遇到胁迫条件(如高温干旱、水涝和盐碱化等)时,会通过提高自身的 SOD 活性来增强其抗逆性^[4],在一定条件下,SOD 活性增加的多少可以在一定程度上反映该植物对逆境耐受性的大小^[5]。但 SOD 所起的作用在不同植物中和不同类型的逆境条件下有所不同,如在水分胁迫下其活性大小不能完全代表原生质忍耐脱水能力^[6]。作者对桉木 8 个无性系在盐胁迫下的 SOD 活性测定结果表明,尽管盐胁迫后 SOD 活性大多(A₆除外)有不同程度的增加,但增加率的大小并不能完全代表无性系对盐胁迫的耐受性,如 X₂的 SOD 活性增加率最高,但其外部生长却表现出对盐胁迫的不耐受性,这说明 SOD 活性增加率的高低可能只是植株对盐胁迫的敏感性大小的反映,各无性系对盐胁迫的耐受性可能更多地取决于自身原有的 SOD 活性水平。另外从表 1 可以看出,随着盐质量分数的增加,大部分无性系的 SOD 活性增加率基本呈下降趋势,说明随着盐胁迫程度的增加,桉木对盐胁迫的耐受性在减小。而 N₂₂随着盐胁迫质量分数的加大,SOD 活性增加率也越来越大,说明 N₂₂无性系可能对较高质量分数盐胁迫更敏感。

MDA 是细胞膜脂过氧化的产物,关于盐胁迫对植物细胞膜脂过氧化作用的研究不多,尽管有研究^[7]已经证明盐胁迫可以增大脂膜透性和影响细胞膜的组成和结构,但真正原因尚不清楚。有些研究^[8]还发现盐生植物或耐盐植物由于受某些遗传因素控制,在低盐胁迫甚至没有盐胁迫条件下,就保持较高的 MDA 水平,随着盐胁迫的增加,MDA 质量摩尔浓度变幅较小,而盐敏感植物则相反。研究结果发现(表 1),在没有盐胁迫条件下,X₄₂,S₁₇和 M₁₉等 3 个无性系具有较高的 MDA 水平,随着 NaCl 质量分数的增加,各无性系叶片 MDA 质量摩尔浓度均有不同程度增加,其中 A₆,S₁₇和 M₁₉等 3 个无性系的 MDA 质量摩尔浓度变化较小,表明这 3 个无性系对盐胁迫具有较强的耐受性。

SOD 活性和 MDA 质量摩尔浓度都是反应植物抗逆性的重要生理指标。有研究发现^[9],植物在胁迫条件下,SOD 活性和 MDA 质量摩尔浓度呈负相关。作者试验结果与该结论基本一致(表 2)。

2.2 盐胁迫对桉木无性系可溶性蛋白质量分数的影响

在盐胁迫条件下,渗透调节是植物提高其耐盐性的一个重要途径。非盐生植物体内渗透调节物质主要是一些有机物如脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白等,这些渗透调节物质质量分数的增加在一定程度上也反应了植物的耐盐性大小。可溶性蛋白是盐胁迫条件下植物细胞内重要的渗透调节剂,可溶性蛋白在细胞内的积累对于降低细胞内溶质的渗透势,均衡原生质体内外的渗透度等具有重要作用。试验结果(表 1)表明,在不同水平盐胁迫下,M₁₉,S₁₇,N₂₂和 D₅ 4 个无性系可溶性蛋白质量分数均有不同程度增加,其中 M₁₉增加率最大,在 6 g·kg⁻¹盐胁迫时,可溶性蛋白增加高达 128%,表明这几个无性系对盐胁迫具有一定程度的耐受性。Almansa 等^[9]研究发现柑橘在高盐胁迫下叶片可溶性蛋白质量分数下降。本试验结果也发现,D₁₀和 X₂仅在低 NaCl 质量分数下可溶性蛋白质量分数有所增加,高 NaCl 质量分数时,可溶性蛋白质量分数下降;而 A₆在 3 个质量分数处理下可溶性蛋白的质量分数均下降,表明桉木无性系 A₆可能属于盐敏感类型。

2.3 盐胁迫对桉木无性系叶绿素质量分数的影响

植物体受盐胁迫易引起叶片失绿和黄化,即叶绿素质量分数的下降。植物的叶绿素质量分数下降

程度可表达该植物的耐盐性^[5]。测定结果(表 1)表明, 柃木在受到盐胁迫伤害时, 最明显的一个特征就是叶片从周边开始枯死。从表 1 我们也可以发现, 除 M₁₉ 外, 其他 7 个无性系在不同水平盐胁迫下, 叶绿素质量分数均下降, 而且随着 NaCl 质量分数的升高下降率逐渐增大。M₁₉ 在正常情况下, 叶片颜色偏黄, 其叶绿素质量分数明显较其他无性系低, 但经过盐胁迫处理后, 叶片颜色变深, 叶绿素质量分数增加, 原因可能是由于细胞中离子浓度的增加对叶绿素的合成产生了一定影响。

表 1 盐胁迫对柃木 8 个无性系生理指标的影响

Table 1 Effects of salt stress on the physiological indexes of 8 clones of *Alnus cremastogyne*

无性系	NaCl 质量分数/ (g·kg ⁻¹)	SOD 活性		MDA		可溶性蛋白		叶绿素	
		测定值/ ($\mu\text{kat}\cdot\text{g}^{-1}$)	增加率/ %	测定值/ ($\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$)	增加率/ %	测定值/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	增加率/ %	测定值/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	增加率/ %
A ₁	0	1.19		12.4		3.9		3.0	
	2	1.29	8.10	15.9	28.23	1.7	-56.41	2.9	3.33
	4	1.27	6.28	15.3	23.39	4.0	2.56	2.7	10.00
	6	1.25	5.03	13.2	6.45	3.0	-23.08	2.4	20.00
D ₅	0	1.24		11.3		3.1		3.4	
	2	1.35	9.02	15.0	32.74	4.0	29.03	3.1	8.82
	4	1.32	6.46	19.2	69.91	3.3	6.45	3.1	8.82
	6	1.34	7.81	20.7	83.19	4.1	32.26	2.8	17.65
A ₆	0	1.04		12.4		3.8		3.4	
	2	0.93	-10.63	13.6	9.68	3.5	-7.89	3.2	5.88
	4	0.91	-12.08	14.2	14.52	3.0	-21.05	2.8	17.65
	6	0.81	-21.74	12.3	-0.81	2.4	-36.84	2.5	26.47
D ₁₀	0	0.66		13.1		4.9		3.7	
	2	0.84	27.99	17.4	32.82	5.3	8.16	2.7	27.03
	4	1.12	70.23	20.2	54.20	4.7	-4.08	2.3	37.84
	6	0.63	-4.33	11.7	-10.69	3.8	-22.45	2.3	37.84
S ₁₇	0	1.12		20.5		3.1		3.8	
	2	1.30	16.74	19.9	-2.93	3.6	16.13	3.7	2.63
	4	1.26	13.00	21.0	2.44	3.9	25.81	3.5	7.89
	6	1.12	0.30	22.7	10.73	3.1	0	3.2	15.79
M ₁₉	0	0.93		16.7		2.1		1.7	
	2	1.00	8.27	18.2	8.98	2.3	9.52	2.3	-35.29
	4	1.27	36.51	14.9	-10.78	2.8	33.33	2.4	-41.18
	6	0.95	1.98	15.5	-7.19	4.8	128.57	2.6	-52.94
N ₂₂	0	0.91		11.9		3.3		3.2	
	2	0.99	8.21	15.5	30.25	3.6	9.09	3.2	0
	4	1.10	20.26	14.5	21.85	3.9	18.18	3.3	-3.12
	6	1.33	45.07	14.9	25.21	3.7	12.12	1.9	40.63
X ₄₂	0	0.24		19.7		2.6		3.3	
	2	0.74	209.09	28.6	45.18	4.2	61.54	2.5	24.24
	4	0.51	113.29	25.6	29.95	2.6	0	2.3	30.30
	6	0.52	119.58	24.9	26.40	1.9	-26.92	2.0	39.39

2.4 柃木无性系对盐胁迫的敏感性比较

盐胁迫下植物体相关器官叶绿素质量分数、SOD 活性、MDA 质量摩尔浓度和可溶性蛋白质量分数的变化可在一定程度上反映该植物抗盐能力^[5]。但依据单一指标测定值来判定其耐盐能力出现偏差的可能性相对较大, 为此, 对 8 个无性系就 4 个生理指标在不同水平盐胁迫下的测定值进行耐盐性综合排序比较, 表现如表 2 (不考虑 4 个生理指标权重及其测定值之间差异显著性)。

表2 桉木8个无性系耐盐性排序

Table 2 The order of salt tolerance of 8 clones of *Alnus crunastogyne*

生理指标	NaCl 质量分数/ ($g \cdot kg^{-1}$)	耐盐性排序							
		1	2	3	4	5	6	7	8
SOD 活性	2	X ₄₂	D ₁₀	S ₁₇	D ₅	M ₁₉	N ₂₂	A ₁	A ₆
	4	X ₄₂	D ₁₀	M ₁₉	N ₂₂	S ₁₇	D ₅	A ₁	A ₆
	6	X ₄₂	N ₂₂	D ₅	A ₁	M ₁₉	S ₁₇	D ₁₀	A ₆
MDA 质量摩尔浓度	2	S ₁₇	M ₁₉	A ₆	A ₁	N ₂₂	D ₅	D ₁₀	X ₄₂
	4	S ₁₇	M ₁₉	A ₆	N ₂₂	A ₁	X ₄₂	D ₁₀	D ₅
	6	D ₁₀	A ₆	M ₁₉	A ₁	S ₁₇	N ₂₂	X ₄₂	D ₅
可溶性蛋白质质量分数	2	X ₄₂	D ₅	S ₁₇	M ₁₉	N ₂₂	D ₁₀	A ₆	A ₁
	4	M ₁₉	S ₁₇	N ₂₂	D ₅	A ₁	X ₄₂	D ₁₀	A ₆
	6	M ₁₉	D ₅	N ₂₂	S ₁₇	D ₁₀	A ₁	X ₄₂	A ₆
叶绿素质量分数	2	M ₁₉	N ₂₂	S ₁₇	A ₁	A ₆	D ₅	D ₁₀	X ₄₂
	4	M ₁₉	N ₂₂	S ₁₇	D ₅	A ₁	A ₆	X ₄₂	D ₁₀
	6	M ₁₉	S ₁₇	D ₅	A ₁	A ₆	D ₁₀	X ₄₂	N ₂₂

根据排序频率靠前优先原则^[11], 对表2的结果进行分析, 在NaCl质量分数为 $2 g \cdot kg^{-1}$ 时, 8个无性系耐盐性从强到弱排序为 $X_{42} > S_{17} > M_{19} > D_5 > N_{22} > D_{10} > A_6 > A_1$; 为 $4 g \cdot kg^{-1}$ 时, 耐盐性从强到弱排序为 $M_{19} > S_{17} > N_{22} > D_5 > A_1 > X_{42} > D_{10} > A_6$; 为 $6 g \cdot kg^{-1}$ 时, 耐盐性从强到弱排序为 $M_{19} > S_{17} > D_5 > A_1 > D_{10} > N_{22} > X_{42} > A_6$ 。

3 讨论

尽管利用生理生化指标可以缩短林木抗盐新品种的选育过程, 但生理生化指标与生长指标以及遗传性状的关系还有待深入研究, 因为植物对盐胁迫的反应是一个整体的植株反应, 某一个生理过程, 即使是重要的生理过程, 也不能决定植株耐盐性, 而且某个特定的生理过程在杂交尤其在多次杂交以后, 往往不能表现出特定的遗传性状^[12], 因此必须采用一系列的综合指标来反应植物的抗性^[3]。而对于具体采用哪几个指标来衡量, 还有待于进一步的研究。赵可夫等^[9]提出用细胞膜透性、渗透调节能力、植物体内盐分含量及光合能力等4项指标综合评定, 此方法尽管还不十分成熟, 但仍不失为一种比较理想的办法。作者的研究采用了SOD活性、MDA质量摩尔浓度、可溶性蛋白质质量分数以及叶绿素质量分数4个生理指标来衡量, 但结果发现, SOD活性的增加率似乎不能反应桉木无性系的真正耐盐性, 由于各无性系自身SOD活性存在较大差异, 如M₁₉和S₁₇2个无性系在无盐胁迫下SOD活性就较高, 经过盐胁迫处理后上升幅度反而较小, 而X₄₂的SOD活性本身较低, 经盐胁迫处理后迅速上升到一个较高的值。这说明无性系之间对盐胁迫的敏感程度不同, 耐盐性较好的可能是那些自身保护酶体系活性较高的无性系, 这与肖雯等^[6]的研究结果一致。A₆的各个指标对盐胁迫的反应也存在不一致现象, 如在盐胁迫下MDA质量摩尔浓度变化不大, 属于耐盐类型, 而其他3个指标的反应却表明A₆不属于耐盐类型, 造成这种反应不一致的原因可能是试验误差, 也可能是植物本身的生理和代谢等原因, 因此A₆无性系的耐盐性尚需进一步探索。鉴于此, 作者在对生理指标进行测定的同时, 还对各无性系的生长状况(如叶片受害程度、叶片脱落数量以及枝条的枯萎等)进行了观察, 结果发现, 在NaCl质量分数为 $2 g \cdot kg^{-1}$ 时, 8个无性系全部能够存活并生长, 但有少量出现盐胁迫受害症状, 如叶片从周边开始枯萎; 在NaCl质量分数为 $4 g \cdot kg^{-1}$ 时, 大部分无性系能够存活并生长, 但受害范围扩大, 甚至出现大面积落叶情况; 在NaCl质量分数为 $6 g \cdot kg^{-1}$ 时, 只有M₁₉, D₅和S₁₇等3个无性系可以生长, X₄₂全部死亡, 其他均有大面积落叶情况。

综合生理指标排序以及对生长状况的调查结果, 作者初步确定M₁₉和D₅2个无性系耐盐性最强, 其次为S₁₇。

参考文献:

- [1] 陈益泰, 卓仁英, 吴天林. 桉木属植物的引种和早期适应性[J]. 林业科学研究, 2004, 17(2): 139—146.
- [2] 陈益泰, 李桂英, 王惠雄. 桉木自然分布区内表型变异的研究[J]. 林业科学研究, 1999, 12(4): 379—385.
- [3] 中国科学院上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [4] WANG Y, CHEN S C. Salt tolerance in seedlings of mangrove *Kandelia candel* (L.). Druce, Rhizophoraceae[J]. *Bull Acad Sin*, 1995, 36(1): 25—31.
- [5] 刘祖祺, 张石城. 植物抗性生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 237—291.
- [6] 谢寅峰, 沈惠娟. 水分胁迫下 3 种针叶树幼苗抗旱性与硝酸还原酶和超氧化物歧化酶活性的关系[J]. 浙江林学院学报, 2000, 17(1): 24—27.
- [7] 龚明, 丁念诚, 贺子仪, 等. 盐胁迫下大麦和小麦等叶片脂质过氧化伤害与超微结构变化的关系[J]. 植物学报, 1989, 31(11): 841—846.
- [8] 肖雯, 贾恢先, 蒲陆梅. 几种盐生植物抗盐生理指标的研究[J]. 西北植物学报, 2000, 20(5): 818—825.
- [9] 赵可夫, 邹琦, 李德全. 盐分和水分胁迫对盐生和非盐生植物细胞膜脂质过氧化作用的效应[J]. 植物学报, 1993, 35(7): 519—525.
- [10] ALMANSA M S, HERNANDEZ J A, JIMENEZ A, *et al.* Effects of salt stress on the superoxide dismutase activity in leaves of *Citrus limonum* in different rootstock-scion combinations[J]. *Biologia Plantarum*, 2002, 45(4): 545—549.
- [11] 陈顺伟, 高智慧, 岳春雷, 等. 盐雾胁迫下杜英等树种生理特性的变化[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2003, 27(5): 11—14.
- [12] MASS E V. Salinity and citriculture [J]. *Tree Physiol*, 1993, 12(2): 195—126.
- [13] ALEEN J A, CHAMBERS J L, STINE M. Prospects for increasing the salt tolerance of forest tree: a review [J]. *Tree Physiol*, 1994, 14(8): 843—853.

Changes of physiological characteristics of eight *Alnus cremastogyne* clones under salt stress

WANG Shu-feng, CHEN Yi-tai, PAN Hong-wei, WU Tian-lin

(Institute of Subtropical Forestry, China Academy of Forestry, Fuyang 311400 Zhejiang, China)

Abstract: Eight *Alnus cremastogyne* clones, which simulated with different concentration of sodium chloride, were measured with four physiological indexes, including SOD activity, MDA content, chlorophyll content and soluble proteins content. The results showed that there were obvious differences of salt tolerance in eight *Alnus cremastogyne* clones because of the different concentrations of sodium chloride and their genetic characteristics. When the concentration of sodium chloride in soil remained $2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, the order of salt tolerance of eight clones was X₄, S₁₇, M₁₉, D₅, N₂, D₁₀, A₆ and A₁. When the concentration came to $4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, M₁₉ and S₁₇ became most tolerant to salt stress and A₆ was extremely sensitive to salt stress. When the concentration was $6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, most tolerant clones were M₁₉, S₁₇ and D₅ clones, A₆ was still the last one. Though the analyze of the physiological indexes and growth phenology, M₁₉ and D₅ were more tolerant to salt stress among the eight clones. [Ch, 2 tab. 13 ref.]

Key words: plant physiology; salt stress; *Alnus cremastogyne*; membrane lipid peroxidation; superoxide dimutase