

红芽芋驯化苗对盐胁迫的光合及生理响应

洪森荣, 尹明华*

(上饶师范学院 生命科学学院, 江西上饶 334001)

摘要:为探讨江西铅山红芽芋的耐盐机制, 以其组培移栽驯化苗为材料, 研究了盐胁迫对其生物量积累、光合特性、荧光特性等抗逆生理特性的影响。结果表明: (1) 红芽芋幼苗生物量和根冠比在低盐胁迫下 ($50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 得到显著促进, 而在高盐胁迫下 ($100 \sim 250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 受到显著抑制。 (2) 低盐胁迫幼苗的净光合速率 (P_n)、气孔导度 (G_s)、气孔限制值 (L_s)、水分利用效率 (WUE) 和瞬时羧化效率 (CUE) 比对照 ($0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 显著增加, 细胞间 CO_2 浓度 (C_i) 比对照显著下降, 蒸腾速率 (T_r) 与对照无显著差异; 高盐胁迫幼苗的 P_n 、 L_s 、 WUE 、 CUE 和 G_s 较对照显著下降, C_i 比对照显著增加。 (3) 低盐胁迫幼苗的最大荧光 (F_m)、PSII 潜在光化学效率 (F_v/F_0) 和光化学猝灭系数 (q_p) 比对照显著增加, 初始荧光 (F_0) 较对照显著下降, PSII 最大光化学效率 (F_v/F_m)、PSII 实际光化学效率 (Φ_{PSII})、开放的 PSII 反应中心捕获激发能效率 (F_v'/F_m') 和非光化学猝灭系数 (NPQ) 与对照无显著差异; 而高盐胁迫幼苗的 F_0 、 F_m 、 F_v/F_m 、 F_v/F_0 、 Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m' 和 q_p 均较对照显著下降, NPQ 比对照显著增加。 (4) 各盐胁迫幼苗叶片的可溶性蛋白含量以及过氧化物酶、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性与对照相比先升后降, 并以低盐下最高; 可溶性总糖和脯氨酸含量均比对照显著增加; 丙二醛含量和质膜透性相对值在低盐胁迫下无显著变化, 而在高盐下显著增加; 叶绿素含量和根系活力在低盐胁迫下无显著变化, 而在高盐胁迫后开始显著下降。研究发现, 江西铅山红芽芋移栽驯化苗的耐盐阈值为 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 其能够诱导提高叶片可溶性蛋白含量和主要保护酶活性, 稳定质膜透性、叶绿素含量和根系活力, 增加 PSII 潜在光化学效率, 提高 PSII 的电子传递活性, 维持 PSII 实际光化学效率, 有效启动非辐射热耗散机制来保护了光合机构, 最终提高净光合速率, 增加生物量。

关键词: 江西铅山红芽芋; 移栽驯化苗; 盐胁迫; 光合和生理响应

中图分类号: Q945.79

文献标志码: A

Photosynthetic and Physiological Responses of Red Bud Taro Transplantating Seedlings under Salt Stress

HONG Senrong, YIN Minghua*

(College of Life Sciences, Shangrao Normal University, Shangrao, Jiangxi 334001, China)

Abstract: The photosynthetic and physiological responses of Jiangxi Yanshan red bud taro (*Colocasia esculenta* L. Schott var. *cormosus* cv. Hongyayu) transplantating seedlings under 50, 100, 150, 200, 250 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ and 0 (CK) of salt stress were studied using its transplantation seedlings. The results showed that: (1) The biomass and root shoot ratio of seedling increased under low salt stress ($50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), and inhibited under high salt stress ($100 \sim 250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$). (2) Under low salt stress, the photosynthetic rate (P_n), stomatal conductance (G_s), stomatal limitation value (L_s), water use efficiency (WUE) and instantaneous carboxylation efficiency (CUE) of seedling significantly increased compared with the control ($0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), its intercellular CO_2 concentration (C_i) decreased significantly compared with the control, and its

收稿日期: 2013-10-11; 修改稿收到日期: 2013-11-16

基金项目: 江西省科技厅 2012 年农业科技支撑项目 (20122BBF60126); 2013 年度江西省高等学校科技落地计划 (KJLD13088)

作者简介: 洪森荣 (1974—), 男, 硕士, 副教授, 主要从事植物生物技术方面的研究。E-mail: hongsenrong@163.com

* 通信作者: 尹明华, 硕士, 副教授, 主要从事生物技术方面的研究。E-mail: yinminghua04@163.com

transpiration rate (T_r) had no significant difference compared with the control. Under the high salt stress, P_n , L_s , WUE , CUE , G_s and T_r of seedling decreased significantly and its C_i increased significantly compared with the control. (3) Under low salt stress, the maximal fluorescence (F_m), photochemical quenching coefficient (F_v/F_0) and photochemical quenching coefficient (q_p) of seedling significantly increased compared with the control; initial fluorescence (F_0) decreased significantly compared with the control. PS II maximal photochemical efficiency (F_v/F_m), actual photochemical efficiency of PS II (Φ_{PSII}), open PS II reaction center capture the excitation energy efficiency (F_v'/F_m') and non photochemical quenching coefficient (NPQ) had no significant difference compared with the control. Under the high salt stress, F_0 , F_m , F_v/F_m , F_v/F_0 , Φ_{PSII} , F_v'/F_m' and q_p of seedling decreased significantly compared with the control; NPQ increased significantly compared with the control. (4) Under salt stresses, soluble protein content, peroxidase, superoxide dismutase and catalase activities of seedling increased first and then decreased compared with the control, reaching the peak at $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, while its content of total soluble sugar and proline were increased significantly compared with the control; its MDA content and plasma membrane permeability had no significant change at $0 \sim 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ and began to increase significantly from $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; its chlorophyll content and root activity had no significant change at $0 \sim 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ and began to decrease significantly from $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$. The study indicated that Jiangxi Yanshan red bud taro transplantation seedlings salt tolerance threshold was $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, which could promote the increase of the soluble protein content, the activities of peroxidase, superoxide dismutase and catalase; maintain the membrane permeability, the chlorophyll content and root activity; increase PS II maximal photochemical efficiency; improve the PS II electronic transfer activity, maintain actual photochemical efficiency of PS II, waste excess light energy as heat by the effective starting non radiative heat energy dissipation mechanisms, thus protect the photosynthetic apparatus, and ultimately enhance net photosynthetic rate and increase the biomass.

Key words: Jiangxi Yanshan red bud taro (*Colocasia esculenta* L. Schott var. *cormosus* cv. Hongyayu); transplantation seedlings; salt stress; photosynthetic and physiological responses

土壤盐渍化是影响农业生产以及生态环境的一个全球性问题,也是当前中国经济发展所面临的生态危机之一^[1]。据统计,全世界约有 10 亿 hm^2 的农业土地发生了盐渍化,次生盐渍化也日趋严重,对农业的威胁成为一个全球性的问题^[2]。因此,开展作物耐盐生理研究,提高作物耐盐胁迫能力和培育耐盐品种具有重要意义。

红芽芋(*Colocasia esculenta* L. Schott var. *cormosus* cv. Hongyayu)是天南星科芋属多年生宿根性湿生草本植物^[3],根白色肉质,株高 $1 \sim 1.5 \text{ m}$,叶柄绿色,茎缩短在地下膨大形成母芋,母芋周边着生 $7 \sim 8$ 个子芋,因芋芽鲜红而得名^[4]。江西铅山红芽芋是江西省上饶市铅山县具有地方特色的芋优良品种,种植历史悠久。近年来成为铅山县农民增收致富的主导产业^[5]。红芽芋的栽培一般都以球茎进行无性繁殖,但长期营养繁殖使栽培芋普遍受病毒感染,造成品质变劣,种性退化,产量下降。目前采用红芽芋茎尖组织培养法进行脱毒已获成功^[5]。但在脱毒苗移栽过程中,由于生境的巨大变化,其直接种植成活率很低。为此,柏新富等^[6]对芋组培苗移栽驯化期间的光合特性进行了研究。但组培苗移栽驯

化后最终还是要移植于大田,而大田复种指数高,施肥、灌溉、耕作频率大,特别是在短期经济利益的趋使下,种植者为了获得高产往往超量施用化肥和盲目偏施氮肥,使得种植土壤盐类积聚,发生不同程度的次生盐渍化^[7]。所以移栽驯化苗能否耐盐,将决定着作物产量和农民经济效益。目前,红芽芋的研究主要集中于高产栽培技术^[4]、营养成分分析^[8]及组织培养^[5]等方面,但其组培移栽驯化苗耐盐方面的研究尚无报道。本实验将考察盐胁迫下红芽芋组培移栽驯化苗的生物量积累、光合特性、叶绿素荧光特性等生理特性,探讨红芽芋组培移栽驯化苗的耐盐性及其生理机制,为在次生盐渍化地区扩大红芽芋种植面积提供理论依据和指导。

1 材料和方法

1.1 材料培养与处理

江西铅山红芽芋组培脱毒苗(由江西省江天农业科技有限公司提供)经过 30 d 移栽驯化后栽培于以沙土(沙和土比例为 $1:1$)为培养基质的塑料育苗营养钵中,每钵 1 株,在 GZX-400BS-III 光照培养箱(上海新苗医疗器械制造有限公司)中培养。光照

培养箱内模拟白天黑夜环境白天光照度(0~25 000 lx),5级可调,夜晚光照为0,光暗周期为14 h/10 h,昼夜温度为(25±0.5)℃,空气相对湿度为60%~70%。培养期间定期浇水保持土壤湿度,并每2周浇1次1/2 Hoagland 营养液。待幼苗新叶长出并完全展开后,根据预试验结果最终确定6个水平的盐(NaCl)处理,即0(CK)、50、100、150、200、250 mmol·L⁻¹,其中0~50 mmol·L⁻¹为轻度盐胁迫(与江西铅山县紫溪乡的次生盐渍化水平大致相同),100~150 mmol·L⁻¹为中度盐胁迫,200~250 mmol·L⁻¹为重度盐胁迫。盐处理30 d后取样测定相关指标。

1.2 测定指标及方法

1.2.1 幼苗鲜干重 盐处理30 d后测定每个处理的幼苗株高;先用自来水洗净泥沙,再用蒸馏水迅速将所测植株冲洗3次,吸水纸擦干植株表面水分,分地上部和根系称得鲜重,再分地上部和根系将材料置105℃烘箱中杀青30 min后转至80℃烘箱烘至恒重,称得干重。最后计算总生物量和根冠比。

1.2.2 光合特性参数 盐处理30 d后,用Li-6400便携式光合仪于9:00~11:00测定完全展开的第3片叶的净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、细胞间CO₂浓度(C_i)、蒸腾速率(T_r)等参数,以及环境CO₂浓度(仪器进气口的CO₂浓度),并计算气孔限制值(L_s)、水分利用效率(WUE)和瞬时羧化速率(CUE),其公式分别为:

$$L_s = 1 - C_i/C_a$$

$$WUE = P_n/T_r$$

$$CUE = P_n/C_i$$

CUE用于估测RuBPCase(1,5-二磷酸核酮糖羧化酶)的活性。使用开放式气路,CO₂浓度为400 μmol·mol⁻¹。

1.2.3 叶绿素荧光参数 将叶片充分暗适应20 min后,在同一叶片上用上述Li-6400便携式光合仪的荧光叶室测定荧光参数。先照射检测光测定叶片的初始荧光(F_0),再用饱和白光光照1 s测最大荧光(F_m),打开内源光化光测 F_m' 、 F_s 及 F_0' 。PSⅡ最大光化学效率为 $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$,PSⅡ潜在光化学效率为 $F_v/F_0 = (F_m - F_0)/F_0$,PSⅡ实际光化学效率 $\Phi_{PSⅡ} = (F_m' - F_s)/F_m'$,开放的PSⅡ反应中心捕获激发能效率 $F_v'/F_m' = (F_m' - F_0')/F_m'$ 计算,光化学荧光猝灭系数 $q_p = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_0')$,非光化学猝灭系数 $NPQ = 1 - F_v'/F_v = 1 - (F_m' - F_0')/F_v$ [9]。

1.2.4 生理指标 总叶绿素(叶绿素a和叶绿素b)、可溶性蛋白、可溶性总糖、脯氨酸和丙二醛(MDA)含量、过氧化物酶(POD)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性和质膜透性测定分别采用丙酮比色法、考马斯亮蓝G-250染色法、蒽酮比色法、酸性茚三酮比色法、硫代巴比妥酸法、愈创木酚法测定、NBT光还原法、紫外吸收法和相对电导率法 [10]。

1.3 数据处理

以上实验均重复3次,本实验所有数据表示为平均值±标准差,各组试验数据用SPSS 19.0软件进行One-Way ANOVA分析,再进行LSD法检验, $P < 0.05$ 为有统计学差异显著性。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对红芽芋组培移栽驯化苗生长的影响

2.1.1 生物量和根冠比 表1表明,各浓度盐胁迫对红芽芋组培移栽驯化苗的生物量和根冠比均具有显著的影响。其中,在50 mmol·L⁻¹的盐胁迫下,红芽芋幼苗的单株鲜重、单株干重以及根冠比均显著增加,分别比对照增加了13.85%、22.67%和10.34%。当NaCl浓度超过50 mmol·L⁻¹时,红芽芋幼苗的单株鲜重、单株干重以及根冠比开始显著下降,并有随盐浓度增加而逐渐降低的趋势,它们分别比对照降低17.61%~55.87%、26.67%~81.33%和20.69%~74.14%。这表明50 mmol·L⁻¹低盐胁迫有利于红芽芋组培移栽驯化苗生物量和根冠比的增加,而100~250 mmol·L⁻¹高盐胁迫抑制了红芽芋组培移栽驯化苗的生长。

2.1.2 叶绿素含量和根系活力 同时,盐胁迫对红芽芋组培移栽驯化苗叶绿素含量和根系活力具有显著性影响(表1)。在50 mmol·L⁻¹盐胁迫下,红芽芋幼苗叶绿素含量比对照虽有一定程度降低,但未达到显著水平;但随着盐浓度增加(100~250 mmol·L⁻¹),红芽芋幼苗叶绿素含量与对照相比均显著性下降,且各处理组之间也差异显著。对于根系活力而言,50 mmol·L⁻¹盐胁迫也没有造成其显著下降,而100~250 mmol·L⁻¹高浓度盐胁迫却显著降低了根系活力,但各处理组之间无显著性差异。

2.2 盐胁迫对红芽芋组培移栽驯化苗叶片光合特性和叶绿素荧光的影响

2.2.1 光合特性 表2显示,盐胁迫对红芽芋组培移栽驯化苗的 P_n 、 G_s 、 C_i 、 T_r 、 L_s 、WUE和CUE均具有显著影响。其中,在50 mmol·L⁻¹盐胁迫下,红

芽芋幼苗 P_n 和 G_s 分别比对照显著增加21.89%和10.20%,而 C_i 比对照显著下降10.67%, T_r 与对照相比无显著性差异。同处理的 L_s 、 WUE 和 CUE 也分别比对照显著增加 26.30%、22.73%和 36.42%。这表明 50 mmol · L⁻¹ 低盐胁迫使红芽芋幼苗气孔导度、气孔限制值、水分利用效率以及瞬时羧化速率增加,而细胞间 CO₂ 浓度下降,蒸腾速率维持不变,有利于红芽芋幼苗的光合作用的进行。该处理幼苗净光合速率显著增加既有气孔因素也有非气孔因素,是两者相互作用的结果。

在 100~250 mmol · L⁻¹ 盐胁迫下,与对照组相比,红芽芋幼苗的 P_n 和 G_s 显著下降, C_i 显著增加, L_s 、 WUE 和 CUE 也显著下降;虽然在 100 mmol · L⁻¹ 盐胁迫下, T_r 与对照相比无显著性变化,但 150~250 mmol · L⁻¹ 盐胁迫均造成蒸腾速率的显著下降。这表明,随着盐胁迫浓度的持续增加(≥ 100 mmol · L⁻¹),红芽芋幼苗的光合作用效率也明显下降,其表现为气孔导度下降,细胞间 CO₂ 浓度增加,

蒸腾速率、气孔限制值、水分利用效率以及瞬时羧化速率也显著下降。因此,100~250 mmol · L⁻¹ 盐胁迫造成红芽芋幼苗净光合速率下降的因素为非气孔因素,其原因可能是高盐胁迫造成 RuBPCase(1,5-二磷酸核酮糖羧化酶)的活性降低,从而影响了幼苗的瞬时羧化速率。

2.2.2 叶绿素荧光特性 盐胁迫对红芽芋组培移栽驯化苗叶片 F_0 、 F_m 、PS II 最大光化学效率(F_v/F_m)、PS II 潜在光化学效率(F_v/F_0)、PS II 实际光化学效率(Φ_{PSII})、开放的 PS II 反应中心捕获激发能效率(F_v'/F_m')、光化学荧光猝灭系数(q_p)和非光化学猝灭系数(NPQ)均具有显著性影响(表 3)。其中,在 50 mmol · L⁻¹ 盐胁迫下,红芽芋幼苗 F_m 、 F_v/F_0 和 q_p 分别比对照显著增加 3.65%、7.49% 和 3.44%,而 F_0 比对照显著下降 2.47%,而 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m' 和 NPQ 与对照相比无显著性差异。在 100~250 mmol · L⁻¹ 盐胁迫条件下,与对照组相比,红芽芋幼苗的 F_0 、 F_m 、 F_v/F_m 、 F_v/F_0 、 Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m'

表 1 盐胁迫下红芽芋组培移栽驯化苗生长指标的变化

Table 1 The growth characteristics of red bud taro tissue culture transplantation seedlings under salt stress

NaCl 浓度 NaCl concentration /(mmol · L ⁻¹)	单株鲜重 Fresh weight of single plant/g	单株干重 Dry weight of single plant/g	根冠比 The ratio of root/shoot	叶绿素含量 Chlorophyll content /(mg · g ⁻¹)	根系活力 Root activity /%
0(CK)	42.6±3.4 b	7.5±0.2 b	0.58 b	3.968±0.056 a	100.0±0.0 a
50	48.5±2.5 a	9.2±0.3 a	0.64 a	4.024±0.084 a	98.2±0.5 a
100	34.3±2.0 c	5.5±0.3 c	0.46 c	3.258±0.037 b	82.5±3.6 b
150	35.1±1.8 c	4.2±0.4 d	0.35 d	2.554±0.028 c	78.3±5.2 b
200	24.6±1.6 d	3.1±0.2 e	0.22 e	2.026±0.094 d	75.8±6.4 b
250	18.8±2.2 e	1.4±0.5 f	0.15 f	1.844±0.025 e	76.4±3.3 b

注:同一列中小写字母表示在 0.05 水平上的差异性;下同。
Note:The different letters in the same volume stand for the signification at 0.05 level;The same as below.

表 2 盐胁迫下红芽芋组培移栽驯化苗光合特性参数的变化

Table 2 The photosynthetic characteristics of red bud taro tissue culture transplantation seedlings under salt stress

指标 Item	NaCl 浓度 NaCl concentration/(mmol · L ⁻¹)					
	0(CK)	50	100	150	200	250
净光合速率 $P_n/(\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$	13.52±0.42 b	16.48±0.51 a	8.240±0.36 c	4.752±0.18 d	2.425±0.24 e	1.650±0.15 f
气孔导度 $G_s/(\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$	0.49±0.13 b	0.54±0.11 a	0.38±0.11 c	0.12±0.05 d	0.08±0.01 d	0.03±0.00 d
细胞间 CO ₂ 浓度 $C_i/(\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1})$	284.55±32.30 c	254.20±25.28 d	295.64±26.95 b	299.78±15.84 b	304.59±16.56 b	314.52±24.82 a
蒸腾速率 $T_r/(\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$	3.62±0.48 a	3.59±0.31 a	3.15±0.50 a	1.88±0.28 b	1.05±0.35 bc	0.86±0.14 c
气孔限制值 L_s	0.289±0.037 b	0.365±0.034 a	0.261±0.029 c	0.252±0.026 c	0.239±0.015 d	0.214±0.008 e
水分利用效率 $WUE/(\mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1})$	3.74±0.12 b	4.59±0.15 a	2.62±0.12 c	2.53±0.08 c	2.30±0.09 d	1.92±0.05 e
瞬时羧化速率 $CUE/(\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$	47.5±0.16 b	64.8±0.24 a	27.9±0.12 c	15.9±0.15 d	8.0±0.08 e	5.2±0.02 f

表 3 盐胁迫下红芽芋组培移栽驯化苗叶绿素荧光特性的变化
Table 3 The chlorophyll fluorescence characteristics of red bud taro
tissue culture transplantation seedlings under salt stress

指标 Item	NaCl 浓度 NaCl concentration/(mmol · L ⁻¹)					
	0(CK)	50	100	150	200	250
初始荧光 F_0	92.65±21.36 b	90.36±32.24 a	82.54±10.62 c	84.57±6.59 c	73.84±5.85 c	78.61±7.88 c
最大荧光 F_m	582.34±52.35 b	603.65±42.31 a	442.55±25.55 c	344.43±19.84 d	270.62±34.52 e	242.94±51.30 f
最大光化学效率 F_v/F_m	0.841±0.002 a	0.850±0.005 a	0.813±0.004 b	0.754±0.005 c	0.727±0.006 d	0.676±0.003 e
潜在光化学效率 F_v/F_0	5.285±0.024 b	5.681±0.038 a	4.362±0.046 c	3.073±0.065 d	2.665±0.019 e	2.091±0.076 f
实际光化学效率 Φ_{PSII}	0.725±0.045 a	0.684±0.032 a	0.509±0.024 b	0.416±0.026 c	0.327±0.012 d	0.209±0.014 e
捕获激发能效率 F_v'/F_m'	0.856±0.025 a	0.825±0.032 a	0.623±0.019 b	0.518±0.013 c	0.452±0.033 c	0.416±0.018 c
光化学淬灭系数 q_p	0.785±0.056 b	0.812±0.084 a	0.761±0.063 c	0.728±0.035 d	0.645±0.047 e	0.574±0.038 f
非光化学淬灭系数 NPQ	0.324±0.114 d	0.482±0.084 d	0.653±0.062 c	0.864±0.105 b	0.945±0.037 a	0.968±0.095 a

和 q_p 显著下降,而 NPQ 却显著增加;各处理组(100~250 mmol · L⁻¹)之间比较而言,其 F_0 无显著性差异, F_m 、 F_v/F_m 、 F_v/F_0 、 Φ_{PSII} 和 q_p 随盐浓度增加而显著下降; NPQ 随盐浓度增加而显著增加,并当盐浓度为 200 和 250 mmol · L⁻¹ 时趋于稳定; F_v'/F_m' 随盐浓度增加而显著下降,但当盐浓度 ≥ 100 mmol · L⁻¹ 时不再有差异性变化。

以上结果说明,50 mmol · L⁻¹ 盐胁迫可以诱导增加 PSⅡ 潜在光化学效率,提高 PSⅡ 的电子传递活性,维持 PSⅡ 实际光化学效率,有效启动非辐射热能量耗散机制将过剩光能以热的形式耗散掉,从而保护了光合机构,而 100~250 mmol · L⁻¹ 盐胁迫可以降低 PSⅡ 潜在光化学效率,潜在活性中心受损,光合作用原初反应受到抑制,降低了 PSⅡ 实际光化学效率,同时有效启动了非辐射热能量耗散机制,将过剩光能以热的形式耗散掉,保护了植株的光合机构。

2.3 盐胁迫对红芽芋组培移栽驯化苗叶片抗逆性生理指标的影响

2.3.1 渗透调节物质含量 盐胁迫对红芽芋组培移栽驯化苗渗透调节物质的含量具有显著性影响(表 4)。其中,红芽芋幼苗可溶性蛋白含量在 50 mmol · L⁻¹ 盐胁迫下比对照显著增加,但其随着盐浓度继续增加(100~250 mmol · L⁻¹)又比对照逐渐显著下降;对于脯氨酸含量而言,各盐胁迫处理(50~250 mmol · L⁻¹)均比对照大幅度显著增加,并有随盐浓度增加而逐渐升高的趋势,且各处理组间均有显著差异;对于可溶性总糖含量来说,50~250 mmol · L⁻¹ 盐胁迫处理也均比对照逐渐显著增加,但 50 和 100 mmol · L⁻¹ 盐胁迫下的可溶性总糖含量无显著性差异。以上结果说明,红芽芋组培移

栽驯化苗可以通过增加可溶性蛋白、可溶性总糖和脯氨酸的含量来增强对低盐胁迫(50 mmol · L⁻¹)的耐受性,高盐胁迫虽然提高了可溶性总糖和脯氨酸的含量,但由于可溶性蛋白含量急剧下降,还是导致了移栽驯化苗的伤害。

2.3.2 保护酶活性 从表 5 可知,盐胁迫对红芽芋组培移栽驯化苗 3 种保护酶活性具有显著性影响,并且都在 50 mmol · L⁻¹ 盐胁迫下达到最高值,而后随盐浓度增加而逐渐下降。其中,在 50 mmol · L⁻¹ 盐胁迫下,红芽芋幼苗 POD、SOD 和 CAT 活性与对照相比分别显著增加 25.49%、9.81% 和 8.33%,但而后三者活性又随着盐浓度增加(100~250 mmol · L⁻¹)与对照相比又逐渐显著下降,且各处理组间均存在显著性差异。以上结果说明,红芽芋组培移栽驯化苗还可以通过提高过氧化物酶、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的活性来增强对低盐胁迫(50 mmol · L⁻¹)的耐受性,而高盐胁迫造成移栽驯化苗的伤害与其降低了 3 种保护酶的活性有关。

表 4 盐胁迫下红芽芋组培移栽
驯化苗渗透调节物质含量的变化

Table 4 The contents of osmotic adjusting substances
of red bud taro tissue culture transplantation
seedlings under salt stress

NaCl 浓度 NaCl concentration /(mmol · L ⁻¹)	可溶性蛋白含量 Soluble protein content /(mg · g ⁻¹)	可溶性总糖含量 Total soluble sugar content /(mg · g ⁻¹)	脯氨酸含量 Proline content /(μg · g ⁻¹)
0(CK)	0.964±0.068 b	1.052±0.155 e	182.53±26.55 f
50	1.650±0.102 a	1.864±0.224 d	228.94±35.42 e
100	0.821±0.261 b	1.918±0.304 d	358.72±30.60 d
150	0.659±0.086 c	2.456±0.159 c	450.50±18.77 c
200	0.482±0.115 d	3.158±0.098 b	512.46±21.69 b
250	0.269±0.075 e	3.937±0.211 a	652.33±10.52 a

表 5 盐胁迫对红芽芋组培移栽
驯化苗保护酶活性的影响

Table 5 Effects of salt stress on the protective enzyme activities of red bud taro tissue culture transplantation seedlings

NaCl 浓度 NaCl concentration /(mmol · L ⁻¹)	过氧化物酶活性 POD activity /(U · g ⁻¹)	超氧化物歧化酶活性 SOD activity /(U · g ⁻¹)	过氧化氢酶活性 CAT activity /(U · g ⁻¹)
0(CK)	25.62±2.25 b	59.63±2.33 b	236.85±21.44 b
50	32.15±4.46 a	65.48±5.77 a	256.59±18.92 a
100	20.64±5.89 c	42.12±4.28 c	211.05±13.26 c
150	14.92±2.13 d	30.84±2.55 d	189.68±14.79 d
200	10.28±0.89 e	24.61±6.24 e	166.95±23.33 e
250	5.640±1.12 f	20.52±3.98 f	128.66±20.53 f

表 6 盐胁迫对红芽芋组培移栽驯化
苗膜脂过氧化作用的影响

Table 6 Effects of salt stress on the membrane lipid peroxidation of red bud taro tissue culture transplantation seedlings

NaCl 浓度 NaCl concentration /(mmol · L ⁻¹)	丙二醛含量 MDA content /(mmol · g ⁻¹)	质膜相对透性 Permeability of plasma membrane/%
0(CK)	1.439±0.085 e	33.28±6.20 e
50	1.532±0.062 e	31.65±4.23 e
100	2.346±0.034 d	40.83±2.69 d
150	2.952±0.102 c	52.33±5.33 c
200	4.264±0.113 b	60.51±2.31 b
250	5.128±0.073 a	69.60±7.20 a

2.3.3 膜脂过氧化作用 从表 6 可知,盐胁迫对红芽芋组培移栽驯化苗膜脂过氧化作用具有显著性影响。其中,在 50 mmol · L⁻¹ 盐胁迫下,红芽芋幼苗丙二醛含量和质膜相对透性与对照相比均无显著性差异,但随着盐浓度继续增加(100~250 mmol · L⁻¹)又比对照逐渐显著增加,两者比对照增加幅度分别为 63.03%~256.36%和 22.69%~109.13%,且各处理组之间均存在显著性差异。可见,100~250 mmol · L⁻¹ 盐胁迫已经对红芽芋组培移栽驯化苗膜脂造成了严重的膜脂过氧化伤害。

3 讨 论

盐分对植物生长的抑制机理是一个非常复杂的问题。一般而言,盐胁迫引起植株生长受抑是一系列生理反应综合作用的结果,其中包括光合特性、叶绿素荧光特性以及渗透调节和抗氧化酶系统保护等的改变^[11]。

首先,盐胁迫对植物生长和代谢的影响是多方

面的,尤以对光合作用的影响最为突出。但对于盐胁迫下植物净光合速率降低的原因至今还未达成共识,有学者认为主要是气孔限制^[12],也有的认为是非气孔限制^[13],还有人提出低盐胁迫下以气孔限制为主,高盐胁迫下才发生非气孔限制^[14]。邢庆振等^[15]发现,随着胁迫时间的延长,各梯度盐处理下葡萄幼苗叶片 P_n 、 T_r 、 G_s 均降低, C_i 先降后升,从而认为盐胁迫导致 P_n 下降因素是由气孔限制转变为非气孔限制;而薛焱等^[16]和张璐颖等^[17]分别研究了濒危植物长叶红砂和台湾桫欏木幼苗在盐胁迫下的光合作用,发现盐胁迫使两种植物 P_n 、 G_s 、 T_r 逐渐降低,而 C_i 呈上升趋势,认为非气孔因素是导致光合速率下降的主要原因。在本实验中,50 mmol · L⁻¹ 盐胁迫下红芽芋组培移栽驯化苗的 P_n 、 G_s 、 L_s 、 WUE 和 CUE 与对照(0 mmol · L⁻¹)相比均显著增加, C_i 比对照显著下降, T_r 与对照相比无显著性差异;而在 100~250 mmol · L⁻¹ 的盐胁迫下,红芽芋幼苗的 P_n 、 L_s 、 WUE 、 CUE 和 G_s 与对照相比显著下降, C_i 比对照显著增加。根据 Farquhar 等^[18]的观点,检查气孔限制是否是光合作用下降的原因,既要看气孔阻力的大小,同时还要看胞间 CO_2 含量的变化。当光合速率下降时,如果胞间 CO_2 含量降低,而气孔阻力升高,说明光合速率的降低主要是由于气孔限制所致,否则为非气孔限制引起。因此,在低盐胁迫条件下,红芽芋幼苗 P_n 降低是由气孔和非气孔因素共同控制的,而在高盐胁迫下则主要受非气孔因素控制,与 RuBPCase 活性下降影响了瞬时羧化效率有关^[19]。这与杨淑萍等^[20]在海岛棉上的研究结果相一致。

同时,叶绿素荧光动力学参数能够反映 PSⅡ 的功能对环境条件的反应,比气体交换参数更能灵敏反映光合作用的变化情况,因而被视为揭示植物光合作用与环境关系的内在探针^[20]。植物对于光能的利用主要包括光化学反应和热耗散的变化,两者均会引起叶绿素荧光光化学淬灭和非光化学淬灭的相应变化,其中光化学淬灭与光系统Ⅱ(PSⅡ)电子传递和初始电子受体 QA 的氧化还原有关^[21]。因此,通过叶绿素荧光可快速检测完整植株在盐胁迫下光合作用的真实行为,通过分析叶绿素荧光参数的变化可以反映盐胁迫对植物的影响^[22-23]。邢庆振等^[15]发现,盐处理下葡萄幼苗叶片的 PSⅡ 最大光化学效率(F_v/F_m)、PSⅡ 潜在光化学效率(F_v/F_0)、最大量子产额(Yield)、光合电子传递速率(ETR)、光化学淬灭系数(q_p)显著下降而非光化学淬灭系数

(NPQ)则逐步上升。张璐颖等^[17]研究结果表明,台湾桫木幼苗 F_v/F_0) 和 F_v/F_m 随着盐胁迫逐渐下降,而 NPQ 增大, F_0 与 F_v/F_0 、 F_v/F_m 相关性显著, F_0 与 PS II 光化学量子产额(Yield)、光化学淬灭系数(q_p)相关性极显著, F_v/F_0 与 F_v/F_m 、Yield 两两之间相关关系极显著。杨淑萍等^[20]研究显示,低浓度盐分使海岛棉 Φ_{PSII} 、 q_p 和 NPQ 上升,而高浓度盐分导致 F_v/F_0 、 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 、 q_p 均下降, NPQ 提高。本实验结果也表明,在 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的盐胁迫下,红芽芋幼苗的 F_m 、 F_v/F_0 和 q_p 显著增加,而 F_0 显著下降, F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m' 和 NPQ 与对照相比无显著性差异;在 $100 \sim 250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的高浓度盐胁迫下,与对照组相比,红芽芋幼苗的 F_0 、 F_m 、 F_v/F_m 、 F_v/F_0 、 Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m' 和 q_p 显著下降, NPQ 显著增加。说明高盐胁迫下红芽芋幼苗叶片光合电子传递活性降低,而且越来越多的吸收光能通过非光化学的途径被耗散,表现出红芽芋幼苗叶片的自我保护机制。而非光化学猝灭的升高导致光能利用效率明显下降,叶片有效散热所依赖的蒸腾速率下降,多余的光能无法用于光合电子传递及热散热,吸收的光能在光系统局部大量积累,引发 PS II 结构的破坏和反应中心的光化学活性降低,同时有效启动非辐射热能量耗散机制,将过剩光能以热的形式耗散掉,保护植株光合机构,防止净光合速率过度下降,从而实现植株在逆境中的自我保护^[24]。

另外,盐胁迫可使植物体内发生一系列生理生化变化,其中包括膜透性增大,可溶性渗透物质分解,叶绿素分解和膜脂过氧化产物增多等,严重影响了植物的正常生长发育^[25]。大量研究证明,植物一旦遭受盐害,光合色素含量下降,保护酶活性下降,体内自由基大量积累,导致膜脂过氧化等一系列变化,最终使植物遭受伤害。同时植物体会积累大量的渗透调节物质以适应逆境条件。其中,脯氨酸和可溶性糖是 2 种较重要的有机渗透调节剂和保护剂^[26]。薛焱等^[16]发现,随盐胁迫浓度的升高,长叶

红砂幼苗可溶性糖、脯氨酸、游离氨基酸及可溶性蛋白等有机渗透调节物质的合成显著增加。严理等^[27]研究结果表明,深山含笑幼苗叶片膜透性、MDA 含量、游离脯氨酸含量及 POD 和 SOD 活性随着盐胁迫浓度增大而增大,而可溶性糖含量以及叶绿素含量随盐质量分数的增大呈先增加后减少的趋势。刘奕琳等^[28]的结果表明,墨西哥柏幼苗叶片脯氨酸、丙二醛含量则随着盐胁迫程度增加显著上升,叶绿素总含量在低强度胁迫下增大而在高强度胁迫下降低。梁惠萍等^[29]也研究发现,随着盐胁迫浓度的增大,油桐幼苗叶片相对电导率不断增大,MDA 含量增加,脯氨酸含量呈现先降后升的变化趋势,叶绿素含量则呈现先升后降的变化趋势。本实验结果表明,在 $0 \sim 250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐胁迫下,红芽芋组培移栽驯化苗的可溶性蛋白含量、过氧化物酶活、超氧化物歧化酶活性和过氧化氢酶活性均呈先升后降的趋势,可溶性总糖含量和脯氨酸随盐浓度增加而显著增加,丙二醛含量和质膜透性在高盐胁迫下显著增加,而叶绿素含量和根系活力则在高盐胁迫下显著下降,这与张超强等^[30]在小麦幼苗上的研究结果一致。

综上所述,光合参数和叶绿素荧光参数可作为准确、快速、无损地判断红芽芋组培移栽驯化苗耐盐性的重要指标,红芽芋组培移栽驯化苗的生长和光合速率受到盐胁迫的显著抑制,属于耐盐性较弱的农作物,其耐盐阈值为 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。红芽芋是江西铅山县紫溪乡的特色农业,江西江天农业科技有限公司制定的江西省地方标准《绿色食品——红芽芋栽培技术规程》测定了该乡土壤的 NaCl 浓度,约为 $40 \sim 60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,恰好符合红芽芋的耐盐阈值,因此,当地的土壤非常适合该农作物的生长,这也说明了红芽芋在江西铅山生长的道地性,但在红芽芋的种植过程中也要注意避免化肥尤其是氮肥的过量使用而导致的次生盐渍化,以防止红芽芋的减产而造成当地菜农的经济损失。

参考文献:

- [1] ZHU X J(朱晓军), YANG J S(杨劲松), *et al.* Effects of exogenous calcium on photosynthesis and its related physiological characteristics of rice seedlings under salt stress[J]. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2004, **37**(10): 1 497—1 503(in Chinese).
- [2] YANG Y L(杨颖丽), YANG N(杨 宁), WANG L(王 莱), *et al.* Effect of salinity on the physiological characteristics in two wheat cultivars[J]. *Journal of Lanzhou University* (Nat. Sci. Ed.) (兰州大学学报·自然科学版), 2007, **43**(2): 29—34(in Chinese).
- [3] WU C J(吴才君), FAN SH Y(范淑英), JIANG Y H(蒋育华), *et al.* Inducing gathering effect of taro on *Spodoptera litura* Fabricius[J]. *Chinese Journal of Ecology* (生态学杂志), 2004, **23**(4): 172—174(in Chinese).
- [4] YAN X Y(严晓艳), LIU D E(刘大恩). Red bud taro cultivation techniques for high yield[J]. *Journal of Southern Agriculture* (广西农业科学), 2004, **35**(5): 430—431(in Chinese).

- [5] LI H J(李火金). Qianshan red bud taro shoot-tip tissue culture and high yield cultivation[J]. *China Vegetables*(中国蔬菜), 2012, (3): 45—46(in Chinese).
- [6] BAI X F(柏新富), JIANG X M(蒋小满), ZHU J J(朱建军), *et al.* Studies on the photosynthetic characteristics of taro test-tube plantlets after transplantation[J]. *Acta Horticulturae Sinica*(园艺学报), 2005, **32**(3): 518—520(in Chinese).
- [7] WANG S P(王素平), GUO SH R(郭世荣), *et al.* Effects of NaCl stress on the content of photosynthetic pigments in the leaves of cucumber(*Cucumis sativus* L.) seedlings[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*(江西农业大学学报), 2006, **28**(1): 32—38(in Chinese).
- [8] JIANG SH T(姜绍通), CHEN Y ZH(程元珍), ZHENG ZH(郑志), *et al.* Analysis and evaluation of nutritional components of red bud taro(*Colocasia esculenta* L. Schott)[J]. *Food Science*(食品科学), 2012, **33**(11): 269—272(in Chinese).
- [9] MA B Y(马博英), JIN S H(金松恒), XU L G(徐礼根), *et al.* Effects of chilling on chlorophyll fluorescence characteristics in three warm-season turf grasses[J]. *Chinese Journal of Grassland*(中国草地学报), 2006, **28**(1): 58—62(in Chinese).
- [10] 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.
- [11] JIANG W C(姜伟), CUI SH M(崔世茂), ZHANG Y T(张怡婷), *et al.* Effects of KNO_3 , K_2SO_4 and their mixed salt stress on the physiological and biochemical characteristics of pepper seedling[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*(华北农学报), 2011, **26**(5): 164—169(in Chinese).
- [12] BRUGNOLI E, LAUTERI M. Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity, and carbon isotope discrimination of salt-tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and salt-sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.) C_3 non-halophytes[J]. *Plant Physiology*, 1991, **95**(2): 628—635.
- [13] MEYER S, KOUCHKOVSKY Y. Electron transport, Photosystem-2 reaction centers and chlorophyll-protein complexes of thylakoids of drought resistant and sensitive Lupin plants[J]. *Photosynthesis Research*, 1993, **37**(1): 49—60.
- [14] XUE J K(薛巨坤), LI J G(李继光), JIN Y ZH(靳亚忠), *et al.* Effect of silicon on ryegrass growth and photosynthesis under composite subsalt stress[J]. *Northern Horticulture*(北方园艺), 2013, (14): 88—91(in Chinese).
- [15] XING Q ZH(邢庆振), YU S L(郁松林), NIU Y P(牛雅萍), *et al.* Effects of salt stress on photosynthetic physiology and chlorophyll fluorescence characteristics of grape (Red Globe) seedlings[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*(干旱地区农业研究), 2011, **29**(3): 96—100(in Chinese).
- [16] XUE Y(薛焱), WANG Y CH(王迎春), WANG T ZH(王同智). Physiological and biochemical mechanisms of endemic halophyte *Reaumuria trigyna* Maxim. under salt stress[J]. *Acta Bot. Boreali-Occident. Sin.*(西北植物学报), 2012, **32**(1): 136—142(in Chinese).
- [17] ZHANG L Y(张璐颖), WEN X(文笑), LIN Y M(林勇明), *et al.* Effect of salt stress on photosynthetic and chlorophyll fluorescent characteristics in *Alnus formosana* seedlings[J]. *Journal of Fujian College of Forestry*(福建林学院学报), 2013, **33**(3): 193—199(in Chinese).
- [18] FARQUHAR G D, SHARKEY T D. Stomatal conductance and photosynthesis[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1982, **33**(1): 317—345.
- [19] YANG X H, CHEN X Y, GE Q Y, *et al.* Tolerance of photosynthesis to photoinhibition, high temperature and drought stress in flag leaves of wheat: A comparison between a hybridization line and its parents grown under field conditions[J]. *Plant Science*, 2006, **171**(3): 389—397.
- [20] YANG SH P(杨淑萍), WEI CH ZH(危常州), LIANG Y CH(梁永超). Effects of NaCl stress on the characteristics of photosynthesis and chlorophyll fluorescence at seedlings stage in different sea island cotton genotypes[J]. *Scientia Agricultura Sinica*(中国农业科学), 2010, **43**(8): 1 585—1 593(in Chinese).
- [21] ZHANG J(张娟), ZHANG ZH B(张正斌), XIE H M(谢惠民), *et al.* The relationship between water use efficiency and related physiological traits in wheat leaves[J]. *Acta Agron Sin.*(作物学报), 2005, **31**(12): 1 593—1 599(in Chinese).
- [22] LIU J Y(刘家尧), YI Y J(衣艳君), ZHANG CH D(张承德), *et al.* The in vivo chlorophyll fluorescence induction kinetics and its application in study of salt resistance physiology[J]. *Journal of Qufu Normal University*(曲阜师范大学学报), 1997, **23**(4): 80—83(in Chinese).
- [23] HAO X Y(郝兴宇), HAN X(韩雪), LI P(李萍), *et al.* Effects of elevated atmospheric CO_2 concentration on mung bean leaf photosynthesis and chlorophyll fluorescence parameters[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*(应用生态学报), 2011, **22**(10): 2 776—2 780(in Chinese).
- [24] SUN L, ZHOU Y F, LI F X, *et al.* Impacts of salt stress on characteristics of photosynthesis and chlorophyll fluorescence of sorghum seedlings[J]. *Scientia Agricultura Sinica*(中国农业科学), 2012, **45**(16): 3 265—3 272(in Chinese).
- [25] XIE Y Z(谢英赞), HE P(何平), WANG CH Y(王朝英), *et al.* The effects of exogenous CaCl_2 , SA and SNP on physiological traits of *Cassia obtusifolia* L. seedlings under NaCl stress[J]. *Journal of Southwest University*(Nat. Sci. Edi.)(西南大学学报·自然科学版), 2013, **35**(3): 36—43(in Chinese).
- [26] SHEN H(沈慧), MI Y W(米永伟), WANG L Q(王龙强). Effects of exogenous silicon on physiological characteristics of *Lycium ruthenicum* seedling under salt stress[J]. *Acta Agrestia Sinica*(草地学报), 2012, **20**(3): 553—559(in Chinese).
- [27] YAN L(严理), CHEN M X(陈铭显), LIU Y N(刘延男), *et al.* Effect of salt stress on growth of *Michelia maudiae* seedlings and related physiological indices[J]. *Forestry Science & Technology*(林业科技), 2013, **38**(4): 14—17(in Chinese).
- [28] LIU Y L(刘奕琳), WAN F X(万福绪), LOU X R(娄晓瑞). Effects of salt stress on physiological and biochemical index of ten provenances of *Cudressus lusitanica*[J]. *Journal of Nanjing Forestry University*(Nat. Sci. Edi.)(南京林业大学学报·自然科学版), 2013, **37**(4): 29—33(in Chinese).
- [29] LIANG H P(梁惠萍), LEI L T(雷利堂), WANG L H(王凌晖), *et al.* Effects of salt stress on growth and physiological characteristics of *Sindora glabra* seedlings[J]. *Northern Horticulture*(北方园艺), 2013, (12): 51—54(in Chinese).
- [30] ZHANG CH Q(张超强), YANG Y L(杨颖丽), WANG L(王莱), *et al.* Effect of salt stress on H_2O_2 production and antioxidant enzyme activities in leaves of two wheat varieties[J]. *Journal of Northwest Normal University*(Nat. Sci. Edi.)(西北师范大学学报·自然科学版), 2007, **43**(1): 71—75(in Chinese).