

蒺藜苜蓿叶片光合作用对盐胁迫的响应

李紫薇¹, 马天意^{1,2}, 梁国婷^{2,3}, 国 静^{2*}

(1 东北林业大学 盐碱地生物资源环境研究中心, 东北油田盐碱植被恢复与重建教育部重点实验室, 哈尔滨 150040; 2 山东农业大学 林学院, 山东泰安 271018; 3 潍坊科技学院 贾思勰农学院, 山东寿光 262700)

摘 要:为阐明蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)叶片光合效率对盐胁迫的响应规律,明确其土壤盐分阈值,该研究以盆栽蒺藜苜蓿幼苗为研究对象,采用加盐的方式人工模拟盐胁迫环境,设置不同浓度 NaCl 处理(0、50、100、150、200、250、300、400 mmol · L⁻¹),利用 Li-6400 便携式光合测定仪分析了蒺藜苜蓿幼苗光合效率参数对土壤盐分浓度的响应特征。结果表明:(1)蒺藜苜蓿叶片净光合速率(P_n)和光合作用特征参数等具有明显的土壤盐分临界效应。在 NaCl 浓度为 100~200 mmol · L⁻¹时,蒺藜苜蓿可维持较高光合生产力,此盐分范围内适宜的光合有效辐射(PAR)为 600~1 300 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,出现 P_n 最大值(20.7 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)的 NaCl 浓度为 150 mmol · L⁻¹,对应 PAR 为 1 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 左右。(2)在 NaCl 浓度<150 mmol · L⁻¹时,随着 NaCl 浓度的增加,表观量子效率(AQY)、光补偿点(LCP)、暗呼吸速率(R_d)和最大光合速率($P_{n\max}$)逐渐增大;在 NaCl 浓度为 150 mmol · L⁻¹时,AQY、 R_d 和 $P_{n\max}$ 分别达到最大值 0.030、0.605 7 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、19.4 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,而 LCP 达到最小值 19.8 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。(3)NaCl 浓度为 150 mmol · L⁻¹可作为导致蒺藜苜蓿净光合速率下降的气孔限制和非气孔限制因素的转折点,并且随着 NaCl 浓度升高,其光合速率由气孔限制转为非气孔限制的 PAR 降低。以上结果表明,蒺藜苜蓿对盐胁迫具有较强的适应性,在较高盐分浓度下可获得较高的光合生产力。

关键词:蒺藜苜蓿;光合效率;盐胁迫;阈值响应

中图分类号:Q945.79

文献标志码:A

Photosynthesis in Leaves of *Medicago truncatula* under Salt Stress

LI Ziwei¹, MA Tianyi^{1,2}, LIANG Guoting^{2,3}, GUO Jing^{2*}

(1 Alkali Soil Natural Environmental Science Center, Northeast Forestry University/Key Laboratory of Saline-alkali Vegetation Ecology Restoration in Oil Field, Ministry of Education, Harbin 150040, China; 2 College of Forestry, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China; 3 College of Agronomic Sciences, Weifang University of Science and Technology, Shouguang, Shandong 262700, China)

Abstract: To investigate the photosynthetic efficiency in leaves of *Medicago truncatula* and its threshold in response to the salt stress in the soil, we used Li-6400 photosynthesis system to measure the photosynthetic parameters of the pot-grown seedlings under different concentrations of salt treatments (0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 and 400 mmol · L⁻¹). The results showed that: (1) The net photosynthetic rate (P_n) and characteristic parameters of photosynthesis in leaves of *M. truncatula* displayed threshold-value in response to variations in salt concentration. The *M. truncatula* plants were able to maintain higher photosynthetic productivity and the range of the suitable photosynthetic active radiation (PAR) was 600~1 300 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ at NaCl concentration of 100~200 mmol · L⁻¹, the maximum of P_n (20.7 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) appeared

收稿日期: 2014-05-27; 修改稿收到日期: 2014-08-22

基金项目: 国家自然科学基金(31100196); 高等学校博士学科点专项科研基金(20110062120015)

作者简介: 李紫薇(1989—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事植物生理与分子生物学研究。E-mail: liziwei1989@126.com

* 通信作者: 国 静, 博士, 讲师, 主要从事植物生理与分子生物学研究。E-mail: jingguo@sda.edu.cn

at NaCl concentration of $150 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$, and the corresponding PAR was $1\,200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. (2) When the NaCl concentration was lower than $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, the apparent quantum yield (AQY), light compensation point (LCP), respiration rate (R_d) and maximum photosynthesis rate (P_{max}) increased with the NaCl concentration increasing. The maximum AQY (0.030), R_d ($0.6057 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) and P_{max} ($19.4 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) as well as the minimum LCP ($19.8 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) appeared when treated with $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl. (3) According to the theory of stomatal limitation, it is the turning point of $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl, which led to the depression of P_n from stomatal limitation to non-stomatal limitation and the PAR from stomatal limitation to non-stomatal limitation reduced with increasing NaCl concentration. To sum up, *M. truncatula* had high adaptability to salt stress, and had high photosynthetic productivity in high salt concentration.

Key words: *Medicago truncatula*; photosynthesis efficiency; salt stress; threshold response

盐分是影响农业可持续发展的主要限制因子。目前,全世界耕地面积只有 15 亿 hm^2 ,而盐碱地面积约为 10 亿 hm^2 ^[1]。在中国,现有各类盐碱地 3 300 万 hm^2 ,另有部分耕地面临盐碱化威胁^[2]。因此,研究植物对盐胁迫的响应与适应机理对于提高作物的抗盐能力、发展盐碱地农业具有重要的理论指导意义。

豆科植物苜蓿 (*Medicago sativa*) 是一种重要的优质高产牧草。20 世纪 90 年代中期以来,应农业结构调整、畜牧业发展的需要及国家退耕还草政策的要求,苜蓿产业逐步发展成为中国农业领域的新兴产业。苜蓿属于中等耐盐碱豆科植物,其有限的耐盐能力限制着其在盐碱地上的生长。其一年生近缘种蒺藜苜蓿 (*Medicago truncatula*),由于具有基因组小、生长期短、自花授粉、根瘤固氮、遗传转化效率高以及对盐分的中度耐受性等特点,被认为是豆科植物以及耐盐性研究的模式植物。但目前有关蒺藜苜蓿耐盐性的研究多集中于耐盐性的鉴定、盐胁迫下外源物质对其生长的影响、盐胁迫下基因的表达分析及部分耐盐基因功能分析等方面^[3-5],而有关盐分胁迫对蒺藜苜蓿光合生理参数的影响方面的研究还未见报道;并且,关于苜蓿光合生理方面的研究大多局限于少数几个盐分程度(如轻度胁迫、中度胁迫和重度胁迫)下的实验结果。因此,本研究在山东省黄河三角洲通过测定苗期蒺藜苜蓿的光合生理参数与土壤盐分的定量关系,分析探索蒺藜苜蓿光合作用、蒸腾作用和水分利用效率等生理参数对土壤盐分的响应规律,为深入分析蒺藜苜蓿对盐胁迫的响应与适应机理提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料与盐胁迫处理

供试材料为蒺藜苜蓿盐耐受生态型 Jemalong A17,由法国国家科学研究院的 Martin Crespi 提

供。盆栽试验在山东省黄河三角洲重点实验室温室内进行。2013 年 3 月 15 日将培育的蒺藜苜蓿苗移栽至科研温室的盆钵中,盆栽基质为砂壤土。盆钵直径 35 cm、高 55 cm,每盆 3 株,每个处理 6 盆,共 48 盆。幼苗正常生长 1 个月后,每个处理选取生长性状相同的 3 盆健康幼苗进行单因素完全随机试验,含盐量(土壤盐分/土壤干重)通过配置不同浓度梯度的 NaCl 溶液多次微灌来控制,共设置 NaCl 溶液浓度为 0、50、100、150、200、250、300、400 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 8 个盐胁迫处理水平,并以 NaCl 溶液浓度为 0 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理作为对照。试验开始时,经称量控水使各盆中土壤含水量约为田间最大持水量的 70%。为保证处理盆中盐分不流失,盆钵底部设有托盘,深度为 8 cm,渗漏水分及时倒回盆钵。

1.2 气体交换参数测定

为了尽量减少外界光照波动所造成的影响,在具体测定时采用不同盐分胁迫、不同叶片重复之间的交替测定法,可进一步保证不同处理之间观测数据的可比性及准确性。测定选择在完全晴朗天气(2013 年 7 月 1 日~10 日)下的 8:30~11:00 左右时进行,从蒺藜苜蓿幼苗中部选 8~10 片生长健壮的成熟叶片,并做好标记,在不同时间观测时皆用同一叶片。用 Li-6400 便携式光合测定仪(美国 Licor 公司生产)对盐分胁迫下幼苗的气体交换参数以及相应的生态环境要素进行测定。每个叶片重复 3~5 次,取平均值。在叶片气体交换参数的测定过程中,大气 CO_2 浓度为 $(365 \pm 15) \cdot \text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$,田间气温为 $(31.2 \pm 2.2)^\circ\text{C}$,叶室温度为 $(30.2 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,叶室相对湿度为 $(37.3 \pm 1.7)\%$,光合测定仪的流速设定为 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$,利用人工光源将光合有效辐射 (PAR) 控制在 1 500、1 200、1 000、800、600、400、250、200、150、100、50 和 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 等 12 个梯度水平,测定净光合速率-光响应曲

线。在每个光子通量密度下时间控制在 5~6 min,数据稳定后记录。仪器自动记录净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)、气孔导度(G_s)、胞间 CO_2 浓度(C_i)等生理参数以及大气温度(T_c)、相对湿度(RH)等环境因子。

叶片瞬时水分利用效率(WUE)= P_n/T_r

气孔限制值(L_s)= $1-C_i/C_a$

1.3 数据处理

采用直角双曲线修正模型对不同盐分浓度下的蒺藜苜蓿叶片净光合速率-光响应曲线进行模拟,模型表达式为:

$$P_n(PAR) = AQY \frac{1 - \beta PAR}{1 + \gamma PAR} (PAR - LCP) \quad (1)$$

式中, P_n 为净光合速率, PAR 为光合有效辐射, AQY 为 $PAR=0$ 时光响应曲线的初始斜率,即表观量子效率, LCP 为光补偿点。依据该模型表达式,利用 SPSS 11.0 进行非线性回归分析,可求出不同盐分梯度下的光响应特征参数: AQY 、 LCP 、光饱和点(LSP)、暗呼吸速率(R_d)和最大净光合速率(P_{nmax})等(表 1)。模型参数采用 SPSS 11.0 进行单因素方差分析和差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 不同盐分浓度下蒺藜苜蓿净光合速率的光响应特征

蒺藜苜蓿叶片净光合速率(P_n)的变化与盐分(NaCl)浓度密切相关,并具有明确的阈值响应规律(图 1)。在低光照强度下($PAR < 200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), P_n 随着 PAR 的增加呈直线上升,受 NaCl 浓度的影响较小,表明此时光合作用主要受 PAR 的影响。随着 PAR 的继续增加,不同 NaCl 浓度下 P_n 表现出不同的变化规律。在低 NaCl 浓度下($0 \sim 50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), P_n 随着 PAR 的增加而上升,当 PAR 达到 $1\,100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 左右时, P_n 出现饱和现象,之后随着 PAR 的增加迅速下降,下降幅度超过 20%;在 NaCl 浓度为 $100 \sim 200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内,随着 NaCl 浓度的增加, P_n 出现饱和现象(LSP 在 $1\,300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 左右)之后, P_n 略为下降,下降幅度较小, P_n 没有显著差异($P > 0.05$),均维持在较高水平,表明适宜的 NaCl 浓度可以减缓高 PAR 对光合作用的抑制;在 NaCl 浓度为 $250 \sim 300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内, P_n 的变化趋势与低 NaCl 浓度下相似,但 P_n 的 LSP 下降明显,在 $600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 左右;当 NaCl 浓度高于 300

$\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 后,随着 NaCl 浓度增加(至 $400 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时), P_n 随着 PAR 的增加一直处于较低的水平,表明 NaCl 浓度高于 $400 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以后,会发生严重的 NaCl 胁迫,对光合作用产生严重的不良影响。因此,可认为 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 是维持蒺藜苜蓿正常生长的盐分上限,高于此 NaCl 浓度后蒺藜苜蓿光合作用受到明显抑制。

以上分析表明,在 NaCl 浓度为 $100 \sim 200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,蒺藜苜蓿可维持较高光合生产力,此 NaCl 浓度范围内适宜的 PAR 为 $600 \sim 1\,300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,其中出现 P_n 最大值的 NaCl 浓度为 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右,对应的 PAR 为 $1\,200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 左右;在 NaCl 浓度低于 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,蒺藜苜蓿可获得中等的光合生产力,但当 NaCl 浓度大于 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, P_n 明显降低,蒺藜苜蓿的正常生长受到明显抑制。

2.2 蒺藜苜蓿净光合速率对土壤盐分的响应特征

为揭示蒺藜苜蓿 P_n 发生显著变化的土壤盐分临界点,选取 PAR 为 $1\,200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (光饱和点)时对应的 P_n 进行分析。蒺藜苜蓿叶片 $P_n(y)$ 对 NaCl 浓度(x)响应结果符合二次方程模型, $y = -0.000\,2x^2 + 0.048\,7x + 13.112$, $R^2 = 0.734$ (图 2)。由此模型可确定出蒺藜苜蓿 P_n 最大值为 $16.1 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,所对应的 NaCl 浓度为 $122 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。 P_n 为 0 时对应的 NaCl 浓度分别为 -162 和 $405 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,土壤盐分浓度低于 $0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的结果无实际的生物学意义,需删除,因此, NaCl 浓度高于 $405 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,蒺藜苜蓿叶片均不能进行光合作用。

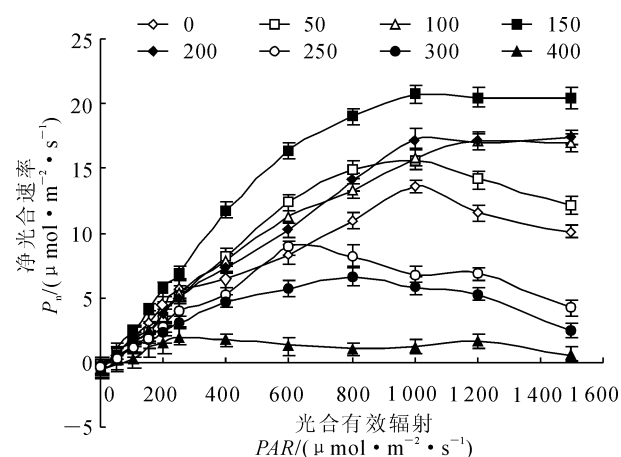


图 1 不同盐分浓度下蒺藜苜蓿叶片净光合速率的光响应
Fig. 1 The response of P_n in leaves of *M. truncatula* to PAR under different salt concentration

同时,进一步根据拟合方程的积分式: $\overline{P_N} = \frac{1}{400-0} \int_0^{400} (\frac{-0.0002}{3}x^3 + \frac{0.0487}{2}x^2 + 13.112x)dx$, 求出不同 NaCl 浓度下 P_n 平均值为 $12.2 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 其对应的盐分浓度分别为 -17 和 $261 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 因此维持蒺藜苜蓿具有较高光合生产力的 NaCl 浓度范围在 $0 \sim 261 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 其中最适宜的 NaCl 浓度为 $121 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.3 蒺藜苜蓿光响应特征参数对盐分浓度的响应

蒺藜苜蓿幼苗光合-光响应特征参数对 NaCl 浓度响应规律有所差异(表 1)。在 NaCl 浓度小于 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, AQY 维持在较高水平(0.02 以上), 除 NaCl 浓度为 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时显著较高外, 其余浓度处理的 AQY 没有显著差异($P>0.05$); 此后 AQY 随着 NaCl 浓度的增加而逐渐下降, 并在 NaCl 浓度为 $400 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最低值(0.01), 与 NaCl 浓度为 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时相比显著下降了 67%。

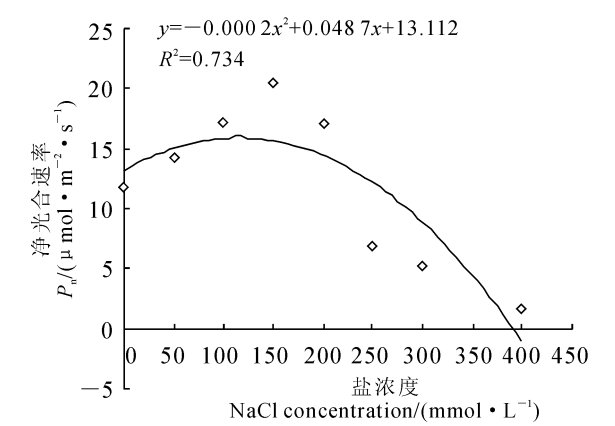


图 2 蒺藜苜蓿叶片净光合速率的盐分响应曲线
Fig. 2 Salt response curves of P_n in leaves of *M. truncatula*

这表明随着 NaCl 浓度增加, 蒺藜苜蓿叶片在弱光利用方面受到较大抑制。

同时, 蒺藜苜蓿叶片 LCP 对 NaCl 浓度的响应规律与其 AQY 相反, 随着 NaCl 浓度的增加, LCP 逐渐增加, 并在 NaCl 浓度为 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最低值($19 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), 但与 NaCl 浓度为 $0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时相比没有显著差异($P>0.05$); 之后, LCP 随着 NaCl 浓度提高而逐渐显著增加, NaCl 浓度为 $400 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的 LCP($54 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) 显著高于其余处理, 它比最低 LCP (NaCl 浓度为 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 增加了 2.7 倍。而蒺藜苜蓿叶片 LSP 与 LCP 呈现相反的变化规律, 即在 NaCl 浓度小于 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内, LCP 较低, LSP 较高, 表明此 NaCl 浓度范围内, 蒺藜苜蓿叶片利用弱光和强光的能力均增强, 表现出适宜 NaCl 浓度下蒺藜苜蓿具有增强对光强的利用以耐受盐分胁迫的适应策略。

另外, 蒺藜苜蓿叶片 P_{nmax} 随 NaCl 浓度的增加呈明显上升趋势, 并在 NaCl 浓度为 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最大值($19.4 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), 之后随着 NaCl 浓度的增加逐渐显著下降; 在 NaCl 浓度小于 $250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内, P_{nmax} 维持在较高水平, 而 NaCl 浓度为 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的 P_{nmax} 仅为 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的 30%, 表明在较低 NaCl 浓度下蒺藜苜蓿具有较强的光合潜能。在 NaCl 浓度小于 $250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 蒺藜苜蓿叶片暗呼吸速率 R_d 与 P_{nmax} 对 NaCl 浓度的响应规律相似, 之后随着 NaCl 浓度的增加而逐渐显著升高; 暗呼吸速率 R_d 在 NaCl 浓度为 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最大值, 与 NaCl 浓度为 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时无显著差异($P>0.05$)。可见, 蒺藜苜蓿在适宜 NaCl 浓度下可增加

表 1 不同盐分浓度下蒺藜苜蓿叶片净光合速率的光响应特征参数

Table 1 Light response parameters of net photosynthetic rate in leaves of <i>M. truncatula</i> under different salt concentration					
盐浓度 Salt concentration /(mmol · L ⁻¹)	表观量子效率 AQY	暗呼吸速率 R_d /($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	最大净光合速率 P_{nmax} /($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	光补偿点 LCP /($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	光饱和点 LSP /($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
0	0.024 1 b	0.481 4 e	12.6 d	20.0 e	1 135 c
50	0.021 2 c	0.547 6 b	14.7 c	25.8 d	1 270 b
100	0.022 4 c	0.605 1 a	16.2 b	27.0 d	1 411 a
150	0.030 6 a	0.605 7 a	19.4 a	19.8 e	1 432 a
200	0.021 8 c	0.568 1 b	16.9 b	26.1 d	1 317 b
250	0.017 3 d	0.526 7 d	9.2 e	30.4 c	990 d
300	0.014 6 e	0.544 0 c	6.1 f	37.3 b	815 e
400	0.010 6 f	0.572 7 b	1.8 g	54.0 a	725 f

注: 同列中标记不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。
Note: The different lowercase letters in the same column mean a significant difference at 0.05 level.

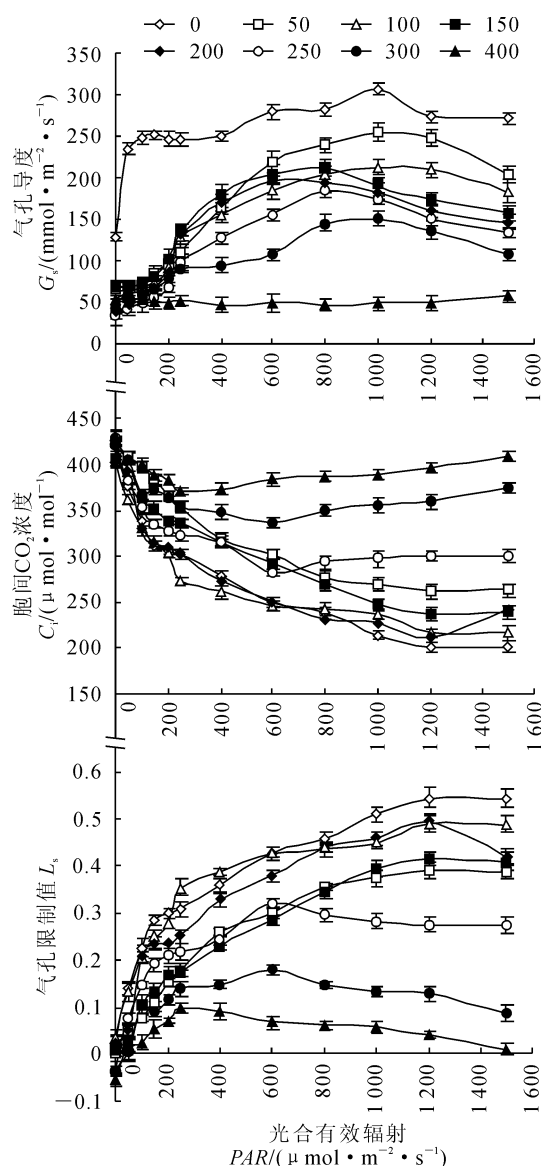


图3 不同盐分浓度下蒺藜苜蓿叶片气孔导度、胞间 CO_2 浓度及气孔限制值的光响应

Fig. 3 The light response of G_s , C_i and L_s in leaves under different salt concentration

呼吸作用对光合产物的消耗,而在 NaCl 浓度较高或较低时其 R_d 较低,蒺藜苜蓿呼吸作用受到抑制,并且抑制了对光合产物的消耗,这利于植物干物质积累。

以上结果说明,蒺藜苜蓿叶片光响应特征参数变化与盐分浓度密切相关,对盐分浓度具有明显的阈值响应,在不同盐分浓度下,蒺藜苜蓿叶片具有的光合潜力及光能利用能力不同。

2.4 不同盐分浓度下蒺藜苜蓿气孔导度、胞间 CO_2 浓度和气孔限制值的光响应特征

蒺藜苜蓿在不同盐分浓度下气孔导度(G_s)、胞间 CO_2 浓度(C_i)和气孔限制值(L_s)的光响应过程

具有明显差别(图3)。在 NaCl 浓度小于 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内,不同 NaCl 浓度下 G_s 、 C_i 和 L_s 的光响应过程相似,即随着 PAR 的增加, G_s 和 L_s 逐渐上升, C_i 逐渐下降,按 Farquhar 等^[6]的气孔限制理论可知,气孔限制是影响光合作用的主要原因。当 NaCl 浓度高于 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 后,随着 PAR 的增加,初始阶段 G_s 和 L_s 逐渐上升, C_i 逐渐下降;当 PAR 超过某一临界值时,又呈现 G_s 和 L_s 逐渐下降,而 C_i 逐渐上升的趋势。此 PAR 临界值可认为是光合作用由气孔限制(G_s 降低引起的 CO_2 供应不足)转变为非气孔限制(光合机构受损导致光合能力下降)的转折点。同时,PAR 临界值随着 NaCl 浓度的增加而逐渐降低,如在 NaCl 浓度为 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时为 $1200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,而在 NaCl 浓度为 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时为 $600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,表明 NaCl 浓度过高,会导致蒺藜苜蓿光合作用发生非气孔限制的 PAR 临界值降低,即其忍耐强光胁迫的能力减弱。

当 NaCl 浓度大于 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (达到 $400 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时),在较低 PAR 下,蒺藜苜蓿 C_i 明显上升,而 L_s 明显下降(图3), G_s 一直维持在较低值,即蒺藜苜蓿的 P_n 一直处于非气孔限制状态。表明较高的盐分胁迫已导致蒺藜苜蓿的光合结构发生破坏,叶肉细胞光合能力下降,光合生产力受到严重影响。

3 讨论

净光合速率是植物对盐胁迫响应最敏感的有效生理指标^[7],一般认为,盐胁迫能显著抑制植物的光合作用^[8-11],并且降低的程度与 NaCl 浓度呈正相关,即 NaCl 浓度越大,作用时间越长,植物光合能力下降越明显^[12-13]。此外,光合能力的下降也与植物的种类及生长环境有关^[14-16];也有研究表明,适度的 NaCl 浓度促进或不影响一些植物的生长,如盐生植物互花米草^[17]、海蓬子^[18]、耐盐植物厚叶石斑木^[19]等。本研究结果表明,不同 NaCl 浓度下蒺藜苜蓿叶片 P_n 具有显著差异($P < 0.05$)。在 NaCl 浓度为 $100 \sim 200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内, P_n 维持在较高水平,盐分能够促进蒺藜苜蓿的光合作用,这可能是蒺藜苜蓿适应盐胁迫的一种策略^[20]。低盐胁迫下,植物 P_n 的增加有利于同化物质的积累,从而促进能量转化,以提高细胞内离子运输和保持细胞内离子不平衡分布之所需,从而从一定程度上缓解盐离子对细胞的毒害作用,维持其平衡^[7,21-22]。但 NaCl

浓度低于 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,蒺藜苜蓿光合速率 P_n 稍高于对照,但与 NaCl 浓度为 $100 \sim 200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时相比反而受到轻微抑制,尤其是在较高 PAR 下(NaCl 浓度为 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时), P_n 下降得比较明显,可能的原因是强光导致光呼吸增强或发生光抑制现象^[23]。随着 NaCl 浓度的增加(高于 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时),蒺藜苜蓿 P_n 受到明显抑制,维持在较低水平,此时 G_s 降低,叶片气孔收缩,从而限制了 CO_2 的输送,导致 P_n 下降,这与在菠菜^[24]、棉花^[25] 上的研究结果相符。这可能是由于盐害程度较大时植物光合机构受到破坏,较多的 Na^+ 进入类囊体膜中抑制光系统 I 和光系统 II 的活性^[26],导致系统的光合还原能力降低和系统活力下降^[21,27],从而抑制光合作用。

光响应特征参数可较好地反映植物的光合潜力及光能利用能力^[28-29],这些参数的变化与植物所处的逆境条件(盐胁迫)密切相关。本研究中蒺藜苜蓿的 AQY 、 LCP 、 R_d 和 $P_{n\text{max}}$ 对盐胁迫具有明显的阈值效应。低 NaCl 浓度下($<150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$),随着 NaCl 浓度的增加, AQY 、 LCP 、 R_d 和 $P_{n\text{max}}$ 逐渐增大;在 NaCl 浓度为 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, AQY 、 R_d 和 $P_{n\text{max}}$ 达到最大值,而 LCP 达到最小值。随着 NaCl 浓度的逐渐提高, AQY 和 $P_{n\text{max}}$ 逐渐减小而 LCP 逐渐升高, R_d 在 NaCl 浓度为 $250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最小值之后逐渐升高。低 NaCl 浓度下 AQY 的逐渐升高可能是蒺藜苜蓿对 NaCl 胁迫的适应策略,接近适宜生长条件下一般植物 AQY 的范围值为 $0.03 \sim 0.05$ ^[30],表明适宜的 NaCl 胁迫可提高蒺藜苜蓿对弱光的利用能力。随着 NaCl 胁迫的增加($>150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), AQY 的降低可能与光系统活性及光还原能力降低有关,此时光合电子传递速率超过消耗能力,产生活性氧^[27], AQY 降低进而导致 $P_{n\text{max}}$ 和 LSP 逐渐减小, LCP 逐渐升高。暗呼吸可

为植物正常生长发育提供物质和能量^[31-32]。不同 NaCl 胁迫下,蒺藜苜蓿 R_d 均维持在较低值,明显低于乔灌木树种^[33-35],说明不同植物对环境影响的适应性差异较大,对弱光环境做出的生理学适应各不相同。

盐胁迫导致植物 P_n 下降主要通过离子毒害、渗透胁迫和营养不平衡三种途径^[36-39]。光合抑制的原因可分为气孔限制和非气孔限制,但对于盐胁迫下植物 P_n 降低的原因说法不一,很多研究报道认为气孔因素是导致小麦、白蜡及菠菜等 P_n 下降的主要原因^[10,40-41],非气孔限制因素是导致大麦、玉米等 P_n 下降的原因^[42-44],还有研究认为二者随环境条件的变化而处于动态的变化之中^[45-46],如盐胁迫下二色补血草叶片 P_n 的下降短期以气孔限制为主,随着胁迫时间延长逐渐转化为非气孔限制^[47]。本研究结果认为,蒺藜苜蓿 P_n 下降对 NaCl 浓度下具有明显的阈值,并且随着 NaCl 浓度的增加发生非气孔限制的 PAR 逐渐降低。在低 NaCl 浓度下($<150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$),随着 PAR 的增加, P_n 达到 LSP 后逐渐降低, G_s 降低,而 C_i 值并没有增加,表明气孔限制是导致 P_n 下降的主要因素;而 NaCl 浓度大于 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, P_n 的下降伴随着 G_s 的降低, C_i 值的增加,表明高光强伤害了蒺藜苜蓿的叶肉细胞,非气孔限制因素导致 P_n 下降。由此可见,不同 NaCl 浓度胁迫和 PAR 下,导致蒺藜苜蓿 P_n 降低的因素有所不同, NaCl 浓度越高,由气孔限制转为非气孔限制的 PAR 越低。

综上所述,蒺藜苜蓿叶片净光合速率和光合作用特征参数对土壤盐分有明显的临界效应。蒺藜苜蓿对盐胁迫具有较强的适应性,在较高盐分浓度下可获得较高的光合生产力,这对深入分析蒺藜苜蓿对盐胁迫的响应与适应机理提供了数据支持。

参考文献:

- [1] XING J W(邢军武). Saline environment and saline agriculture[J]. *Advances in Earth Science* (地球科学进展), 2001, **16**(2): 257-266 (in Chinese).
- [2] ZHAO H M(赵慧明). Eco-physiological characteristics of halophyte salt-worts and their potential utilization in environmental mediation and germplasm improvement[J]. *Bulletin of Science and Technology* (科学通报), 2004, **20**(2): 167-171 (in Chinese).
- [3] WANG Y X(王延秀), ZHANG J W(张金文), WU L G(武禄光). Cloning and construction of plant expression vector of dihydroflavonol reductase gene(DFR) and transgenic *Nicotiana tabacum* [J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2010, **30**(1): 1-7 (in Chinese).
- [4] LI D, SU Z, DONG J, et al. An expression database for roots of the model legume *Medicago truncatula* under salt stress[J]. *BMC Genom-*

- ics, 2009, 10: 517.
- [5] LI D, ZHANG Y, HU X, *et al.* Transcriptional profiling of *Medicago truncatula* under salt stress identified a novel CBF transcription factor MtCBF4 that plays an important role in abiotic stress responses[J]. *BMC Plant Biology*, 2011, 11: 109.
- [6] FARQUHAR G D, SHARKEY T D. Stomatal conductance and photosynthesis[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1982, 33(1): 317—345.
- [7] MUNNS R. Comparative physiology of salt and water stress[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2002, 25(2): 239—250.
- [8] SUN J K(孙景宽), LU ZH H(陆兆华), XIA J B(夏江宝), *et al.* Photosynthetic characteristics of *Limonium bicolor* under salt stress[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2013, 33(5): 992—997(in Chinese).
- [9] GIBBERD M R, TURNER N C, STOREY R. Influence of saline irrigation on growth, ion accumulation and partitioning, and leaf gas exchange of carrot (*Daucus carota* L.) [J]. *Annals of Botany*, 2002, 90(6): 715—724.
- [10] OUEGHI Z, CORNIC G, ROUDANI M, *et al.* Effect of NaCl on photosynthesis of two wheat species (*Triticum durum* and *T. aestivum*) differing in their sensitivity to salt stress[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2000, 156(3): 335—340.
- [11] LIU H CH(刘会超), SUN ZH Y(孙振元), PENG ZH H(彭镇华). Effect of salt stress on the growth and some physiological characteristics in *Parthenocissus quinquefolia* cuttings[J]. *Scientia Silvae Sinicae* (林业科学), 2003, 40(6): 63—67(in Chinese).
- [12] BETHKE P C, DREW M C. Stomatal and nonstomatal components to inhibition of photosynthesis in leaves of *Capsicum annuum* during progressive exposure to NaCl salinity[J]. *Plant Physiology*, 1992, 99(1): 219—226.
- [13] JIANG CH Q(姜超强), LI J(李杰), LIU ZH P(刘兆普), *et al.* Photosynthetic characteristics and chloroplast ultrastructure of transgenic poplar under NaCl stress[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2010, 30(2): 301—308(in Chinese).
- [14] DEMMIG-ADAMS B, ADAMS III W W. Photoprotection and other responses of plants to high light stress[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 1992, 43(1): 599—626.
- [15] MICKELBART M V, MARLER T E. Root-zone sodium chloride influences photosynthesis, water relations, and mineral content of *Sapindus* foliage[J]. *Hort Science*, 1996, 31(2): 230—233.
- [16] BAYUELO-JIMENEZ J S, CRAIG R, LYNCH J P. Salinity tolerance of species during germination and early seedling growth[J]. *Crop Science*, 2002, 42(5): 1 584—1 594.
- [17] SHI F CH(石福臣), BAO F(鲍芳). Effects of salinity and temperature stress on ecophysiological characteristics of exotic cordgrass, *Spartina alterniflora* [J]. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2007, 27(7): 2 733—2 741(in Chinese).
- [18] WANG L Y(王丽燕), ZHAO K F(赵可夫). Effect of NaCl stress on ion compartmentation, photosynthesis and growth of *Salicornia bigelovii* Torr. [J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology* (植物生理与分子生物学学报), 2004, 30(1): 94—98(in Chinese).
- [19] QIU L ZH(裘丽珍), HUANG Y J(黄有军), HUANG J Q(黄坚钦). Comparative study on vegetal and physiological characteristics of different salt tolerant plants under salt stress[J]. *Journal of Zhejiang University* (Agriculture & Life Science) (浙江大学学报·农业与生命科学版), 2006, 32(4): 420—427(in Chinese).
- [20] FOYER C H, NOCTOR G. Tansley Review No. 112. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling[J]. *New Phytologist*, 2000, 146(3): 359—388.
- [21] NEUMANN P. Salinity resistance and plant growth revisited[J]. *Plant, Cell & Environment*, 1997, 20(9): 1 193—1 198.
- [22] AKITA S, CABUSLAY G S. Physiological Basis of Differential Response to Salinity in Rice Cultivars[M]. Genetic Aspects of Plant Mineral Nutrition. Springer Netherlands, 1990: 431—448.
- [23] PARIDA A K, DAS A B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2005, 60(3): 324—349.
- [24] DELFINE S, ALVINO A, VILLANI M C, *et al.* Restrictions to carbon dioxide conductance and photosynthesis in spinach leaves recovering from salt stress[J]. *Plant Physiology*, 1999, 119(3): 1 101—1 106.
- [25] 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.) C₃ non-halophytes[J]. *Plant Physiology*, 1991, 95(2): 628—635.
- [26] ALLAKHVERDIEV S I, SAKAMOTO A, NISHIYAMA Y, *et al.* Ionic and osmotic effects of NaCl-induced inactivation of photosystems I and II in *Synechococcus* sp. [J]. *Plant Physiology*, 2000, 123(3): 1 047—1 056.
- [27] OTT T, CLARKE J, BIRKS K, *et al.* Regulation of the photosynthetic electron transport chain[J]. *Planta*, 1999, 209(2): 250—258.
- [28] YE Z P. A new model for relationship between irradiance and the rate of photosynthesis in *Oryza sativa* [J]. *Photosynthetica*, 2007, 45

- (4):637—640.
- [29] ZHANG SH Y(张淑勇),ZHOU Z F(周泽福),XIA J B(夏江宝),*et al.* The responses of *Euonymus fortunei* var. *radicans* Sieb. leaf photosynthesis to light in different soil moisture[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.* (西北植物学报),2007,**27**(12):2 514—2 521(in Chinese).
- [30] 许大全. 光合作用效率[M]. 上海:上海科学技术出版社,2002.
- [31] TARTACHNYK I I,BLANKE M M. Effect of delayed fruit harvest on photosynthesis,transpiration and nutrient remobilization of apple leaves[J]. *New Phytologist*,2004,**164**(3):441—450.
- [32] TJOELKER M G,OLEKSYN J,LEE T D,*et al.* Direct inhibition of leaf dark respiration by elevated CO₂ is minor in 12 grassland species[J]. *New Phytologist*,2001,**150**(2):419—424.
- [33] JIE Y L(接玉玲),YANG H Q(杨洪强),CUI M G(崔明刚),*et al.* Relationship between soil water content and water use efficiency of apple leaves[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*(应用生态学报),2001,**12**(3):387—390(in Chinese).
- [34] LLUSIA J,PENUELAS J,MUNNE-BOSCH S. Sustained accumulation of methyl salicylate alters antioxidant protection and reduces tolerance of holm oak to heat stress[J]. *Physiologia Plantarum*,2005,**124**(3):353—361.
- [35] WARREN C R,ADAMS M A. Distribution of N,Rubisco and photosynthesis in *Pinus pinaster* and acclimation to light[J]. *Plant,Cell & Environment*,2001,**24**(6):597—609.
- [36] STEDUTO P,ALBRIZIO R,GIORIO P,*et al.* Gas-exchange response and stomatal and non-stomatal limitations to carbon assimilation of sunflower under salinity[J]. *Environmental and Experimental Botany*,2000,**44**(3):243—255.
- [37] CENTRITTO M,LORETO F,CHARTZOULAKIS K. The use of low CO₂ to estimate diffusional and non-diffusional limitations of photosynthetic capacity of salt-stressed olive saplings[J]. *Plant,Cell & Environment*,2003,**26**(4):585—594.
- [38] GOYAL A. Osmoregulation in *Dunaliella*,Part I:Effects of osmotic stress on photosynthesis,dark respiration and glycerol metabolism in *Dunaliella tertiolecta* and its salt-sensitive mutant(HL 25/8)[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*,2007,**45**(9):696—704.
- [39] QIU N,LU Q,LU C. Photosynthesis,photosystem II efficiency and the xanthophyll cycle in the salt-adapted halophyte *Atriplex centralasiatica*[J]. *New Phytologist*,2003,**159**(2):479—486.
- [40] MA H C,FUNG L,WANG S S,*et al.* Photosynthetic response of *Populus euphratica* to salt stress[J]. *Forest Ecology and Management*,1997,**93**(1):55—61.
- [41] DOWNTON W J S,GRANT W J R,ROBINSON S P. Photosynthetic and stomatal responses of spinach leaves to salt stress[J]. *Plant Physiology*,1985,**78**(1):85—88.
- [42] BETHKE P C,DREW M C. Stomatal and nonstomatal components to inhibition of photosynthesis in leaves of *Capsicum annuum* during progressive exposure to NaCl salinity[J]. *Plant Physiology*,1992,**99**(1):219—226.
- [43] DUNN G M,NEALES T F. Are the effects of salinity on growth and leaf gas exchange related[J]. *Photosynthetica*,1993,**29**:33—42.
- [44] JIANG X Y(江行玉),DOU J X(窦君霞),WANG ZH Q(王正秋). Comparison of regulations of NaCl for photosynthesis and osmotic adjustment ability of maize and cotton[J]. *Plant Physiology Communications*(植物生理学通讯),2001,**37**(4):303—303(in Chinese).
- [45] ALLAKHVERDIEV S I,NISHIYAMA Y,MIYAIRI S,*et al.* Salt stress inhibits the repair of photodamaged photosystem II by suppressing the transcription and translation of *psbA* genes in *Synechocystis*[J]. *Plant Physiology*,2002,**130**(3):1 443—1 453.
- [46] AL-TAWEEL K,IWAKI T,YABUTA Y,*et al.* A bacterial transgene for catalase protects translation of D1 protein during exposure of salt-stressed tobacco leaves to strong light[J]. *Plant Physiology*,2007,**145**(1):258—265.
- [47] ZHOU J SH(周俊山),SHI G W(史功伟),ZHANG Y(张艳),*et al.* Effect of salt stress on the photosynthesis of *Limonium bcolor* [J]. *Journal of Shandong Normal University*(Nat. Sci. Edi.) (山东师范大学学报·自然科学版),2007,**22**(1):125—127(in Chinese).