



葎草幼苗的生理生化特征对盐胁迫的响应

王碧霞^{1,2},黎云祥²,丁春邦^{1*}

(1 四川农业大学 生命科学学院,四川雅安 625014;2 西华师范大学 环境科学与工程学院,四川南充 637009)

摘要:采用盆栽法研究葎草(*Humulus scandens*)幼苗的生物量、气体交换参数、叶水势、叶绿素含量、叶绿素荧光参数、抗氧化酶活性及丙二醛(MDA)含量对不同浓度盐(NaCl)(分别为0、100、200、300、400 mmol/L)胁迫的响应,以探讨葎草幼苗对盐胁迫的适应机制及耐性机理。结果表明:(1)随着NaCl胁迫浓度的增加,葎草幼苗生长受到严重抑制,显著降低了根、茎、叶的干重、单叶面积、比叶面积(SLA)和根冠比(R/S)。(2)NaCl胁迫后,葎草幼苗的净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、胞间CO₂浓度(C_i)、蒸腾速率(T_r)和叶水势(Ψ_w)均随盐浓度增加呈显著下降趋势,气孔限制值(L_s)和瞬时水分利用效率(WUE_i)却显著增加。(3)NaCl胁迫下,叶绿素a(Chl a)和叶绿素b(Chl b)等光合色素含量以及过氧化氢酶(CAT)活性均显著降低,但超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性和丙二醛(MDA)含量显著升高,说明植株的抗氧化酶系统对NaCl胁迫具有积极的响应策略。(4)NaCl胁迫显著提高了幼苗最小荧光(F_0)、可变荧光(F_v)、最大荧光(F_m)、表观光合电子传递速率(E_{TR})和光化学淬灭系数(qP),有效降低了PSⅡ有效光化学量子产量(F'_m/F'_0)、非光化学淬灭系数(qN),并在不同盐浓度梯度下存在着显著的效果差异。研究表明,低浓度(100 mmol/L)NaCl胁迫对葎草幼苗生长没有显著影响,但随着浓度的增加,葎草幼苗的气体交换、叶绿素含量、PSⅡ反应能力、抗氧化酶系统均受到抑制,植株的生长发育受到严重影响。

关键词:葎草;盐胁迫;气体交换参数;抗氧化酶活性;叶绿素荧光参数

中图分类号:Q945.78

文献标志码:A

Physiological and Biochemical Responses of *Humulus scandens* Seedlings to NaCl Stress

WANG Bixia^{1,2}, LI Yunxiang², DING Chunbang^{1*}

(1 College of Life and Basic Sciences, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China; 2 College of Environmental Science and Engineering, China West Normal University, Nanchong Sichuan 637009, China)

Abstract: The physiological and biochemical characteristics of *Humulus scandens* seedlings under NaCl stress (0, 100, 200, 300 and 400 mmol/L NaCl) was studied. The study results indicated that: (1) the growth of *H. scandens* seedlings has severely inhibited with the increase of NaCl concentration, and the root, stem and leaf dry weight, single leaf area, specific leaf area(SLA) and root/shoot ratio(R/S) also reduced. (2) The P_n , G_s , C_i , T_r and Ψ_w in leaves of *H. scandens* seedlings were all decreased, but the values of L_s and WUE_i obviously increased, and the effects strengthened with the increasing of salinity concentration. (3) The NaCl stress obviously had a lower Chl a and Chl b contents CAT activity, and a higher superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) activities and malondialdehyde (MDA) content. It shows that the antioxidant enzyme system of *H. scandens* seedlings has a positive response strategy to NaCl stress. (4) The minimum fluorescence (F_0), variable fluorescence (F_v), maximum fluorescence (F_m), electron transport rate (E_{TR}) and photochemical quenching coefficient (qP) of *H. scandens* seed-

收稿日期:2016-09-24;修改稿收到日期:2016-12-14

基金项目:四川省教育厅项目(12ZB142)和西华师范大学科研创新团队资助

作者简介:王碧霞(1977—),女,在读博士生,讲师,主要从事植物生理生态研究。E-mail:696wbx@163.com

*通信作者:丁春邦,教授,博士生导师,主要从事植物学教学与科研工作。E-mail:dcb@sicau.edu.cn

lings were also significantly increased in different NaCl concentrations, but the effective photochemical quantum yield (F_m'/F_o') and non-photochemical quenching coefficient of PSⅡ(qN) effectively decreased. In summary, there was no apparent effect of *H. scandens* seedlings under low NaCl stress(100 mmol/L). However, gas exchange parameters, chlorophyll contents, chlorophyll fluorescence parameters, antioxidant enzyme activities were inhibited with the increase of NaCl concentration. Especially, high concentration of NaCl stress seriously affected the growth of *H. scandens* seedlings, their physiological and biochemical indexes showed a gradually decreasing trend.

Key words: *Humulus scandens*; NaCl stress; gas exchange parameters; antioxidant enzyme activity; chlorophyll fluorescence parameters

盐胁迫是植物主要的非生物胁迫环境因子之一,由于受人口增长、工业污染加剧,以及不合理的灌溉、耕作等因素的影响,全球现有各种盐渍化土地约 9.5×10^9 hm²,约占陆地总面积的22%^[1],中国盐碱地面积约为9 913万hm²,约占全国可耕地面积的25%^[2]。由于盐胁迫不仅破坏植物叶绿体结构,伤害细胞膜,减弱光合能力,同时还造成植物生理干旱,叶水势下降,导致各种代谢紊乱^[2-5],因而盐碱土壤的适生植被种类稀少,植被建植困难,使得当地水土流失严重、生态系统脆弱,甚至还严重制约着区域农业经济的发展^[4]。有研究发现,低盐对台湾桤木(*Alnus formosana*)的净光合速率(P_n)没有影响^[3];中盐浓度(200 mmol/L)下,小麦(*Triticum aestivum*)叶片的 P_n 和气孔导度(G_s)下降,大麦(*Hordeum vulgare*)叶片的 P_n 、 G_s 却没有变化^[6];带木橘(*Aegle marmelos Correa*)的叶绿素a、b含量和总量在中浓度盐胁迫下略有增加,在高浓度盐胁迫下持续下降^[7]。但更多的研究认为,盐胁迫会导致植株光合速率下降、抗氧化酶活性升高、叶绿素含量减少,光系统Ⅱ(PSⅡ)反应中心发生变化^[2,4-5],其下降程度主要取决于盐胁迫浓度和胁迫时间以及植物的种类^[6-9]。植物的抗盐机制十分复杂,不同植物的组织结构和代谢机理不同,使得其生理代谢和生化变化也不同。因此,以适应能力较强的草本植物为研究对象,开展其生理生化特性对不同浓度的盐胁迫的响应研究,对于进一步揭示植物对盐胁迫的适应机理具有重要意义。

葎草(*Humulus scandens*)为桑科(Moraceae)葎草属(*Humulus*)的一年或多年生草质藤本,别称拉人草、五爪龙等,中国除青海、新疆外,南北各省区广泛分布,主要生长在荒山荒坡及沟边、路旁等荒芜区域。葎草含有木犀素、挥发油、胆碱多种化学和生物活性激素类物质,其嫩茎和叶可作畜禽饲料,也可全草入药,具有医疗保健等功效^[10-12]。同时,它还具有生长速度快、以及能适应多种土壤环境和气候

条件等特点,是常见的恶性杂草之一。但其在控制水土流失和治理残塬沟壑荒坡中却具有显著的生态效应,尤其是在盐碱地的绿化和工程矿地、裸露地中具有极大的应用潜力。目前,有关葎草的化学成份和药理作用已有深入研究^[10-13],在环境胁迫方面的文献却较少^[14-15],且盐胁迫对葎草幼苗生长和光合特性的影响也未见报道。本研究通过分析不同盐浓度下葎草幼苗的气体交换参数、叶水势、叶绿素含量、叶绿素荧光、抗氧化酶活性、MDA含量以及根、茎、叶的干重等生理生化指标的变化,旨在探明葎草幼苗对不同盐浓度的适应机制及耐性机理,为开发利用葎草资源并发挥其生态治理的明显优势提供理论参考,同时也为制定恶性杂草合理有效的防治方法提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

2014年10月中下旬采集四川省南充市本地葎草野生种子,于2015年2月23日播种,待生长45 d后,选择长势基本一致的幼苗25株移栽到体积为10 L的塑料盆内(每盆装入河沙1.5 kg,匀质土壤7.5 kg),每盆1株,缓苗20 d后进行盐胁迫试验。参照Parida等的盐浓度^[16],试验共设4个盐分梯度(3个处理组),即低浓度组(100 mmol/L)、中浓度组(200和300 mmol/L)、高浓度组(400 mmol/L),对照(CK)浇施等量清水,每个处理5株重复。NaCl按相应浓度配成1 000 mL的溶液,于4月28日一次性缓慢均匀浇灌于盆内土壤中。为防止溶液渗漏,对照组和处理组塑料盆内均套有塑料袋(土壤置于塑料袋内)。

1.2 测量指标及方法

1.2.1 生物量与叶面积指标 于2015年5月27日用LI-3000C便携式面积仪(LI-COR公司,美国)对各处理植株的单株叶面积进行测量。5月30日选取各处理下的植株清洗根部泥土后,置70℃烘箱

内 48 h 烘干至恒重后, 分别测定各植株根、茎、叶的生物量, 并计算比叶面积(SLA, 叶面积与叶干重之比)和根冠比(R/S, 地下部分干重/地上部分干重)。

1.2.2 气体交换参数和叶绿素荧光参数 于 2015 年 5 月 28 日, 采用 LI-6400 便携式光合测定仪(Li-Cor 公司, 美国)测定光合气体交换特征参数, 参照王碧霞等^[15]的测定方法。测定指标为净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)、气孔导度(G_s)、胞间 CO₂ 浓度(C_i)等, 并计算瞬时水分利用效率($WUE_i = P_n/T_r$)和气孔限制值 [$L_s = (C_a - C_i)/C_a$]^[17]。叶水势(Ψ_w , MPa)用露点水势仪(WP4C, Decagon, 美国)同期活体原位测定。

同时, 采用便携式调制叶绿素荧光仪(Junior-Pam, Heinz Walz, Effeltrich, Germany)于 2015 年 5 月 28 日 20:00~24:00 时测定自然条件下葎草幼苗的叶绿素荧光参数。测定方法参照文献[15], 测量指标包括: 光下最大荧光(F_m')、光下最小荧光(F_o')、最小荧光(F_o)、最大荧光(F_m)、表观光合电子传递速率(E_{TR})、最大光化学效率(F_v/F_m)、光化学淬灭系数(q_P)和非光化学淬灭系数(q_N), 均由仪器自动测得, 依次计算出 PSⅡ有效光化学量子产量(F_m'/F_o')和可变荧光(F_v , $F_v = F_m - F_o$)。

1.2.3 叶绿素含量 随机选取各处理下幼苗各 3 株, 取植株上部第 5 或 6 片全展向阳叶片, 采用丙酮提取法(提取液为 80%丙酮)测定叶绿素含量^[18], 在波长 663、646 和 470 nm 下分别测定吸光值 A_{663} 、 A_{646} 和 A_{470} , 按照 Lichtenthaler^[19]的公式计算叶绿素 a ($Chl\ a, C_a = 12.21A_{663} - 2.81A_{646}$)、叶绿素 b ($Chl\ b, C_b = 20.13A_{646} - 5.03A_{663}$)、类胡萝卜素 [$Chl\ x, C_x = (1000A_{470} - 3.27C_a - 104C_b)/229$] 含量和叶绿素 a/b($Chl\ a/b = C_a/C_b$)。

1.2.4 抗氧化酶活性和丙二醛含量 于 2015 年 5 月 29 日, 随机选择各种处理下的幼苗各 3 株, 并选取各植株上部第 5 或 6 片完全展开的向阳叶片用于测定超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性及丙二醛(MDA)含量。在 0~4 ℃条件下, 向已预冷的研钵中置入 0.3 g 叶片后, 加入 6 mL 预冷的提取缓冲液[磷酸缓冲液 pH 7.8, 1 mmol·L⁻¹乙二胺四乙酸(EDTA)和 1% 聚乙烯吡咯烷酮(PVP)], 于冰中研磨成匀浆, 再在 4 ℃(12 000×g)下离心 30 min, 取上清液为待测酶液用于试验。POD 活性采用愈创木酚法测定^[20], SOD 活性采用氮蓝四唑(NBT)比色法测定^[21], CAT 活性采用紫外分光光度计法测量^[22], 丙二醛

(MDA)含量参照李合生等^[23]的硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定。

1.3 数据统计分析

利用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析。平均值间的比较采用单因素方差分析方法(One-Way ANOVA); 不同处理间的差异显著性采用 Duncan 多重比较检验。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫对葎草幼苗生物量及叶生长的影响

表 1 显示, 随着 NaCl 胁迫浓度的增加, 葎草幼苗的根、茎、叶干重和根冠比(R/S)都呈逐渐降低趋势, 其比叶面积(SLA)表现出先升后降的趋势, 而单叶面积却表现出不规律的上下波动趋势, 但各指标在处理间的差异大多都达到显著水平。其中, 低浓度盐胁迫组(100 mmol/L)葎草幼苗仅单叶面积比对照(CK)显著增加 19.9% ($P < 0.05$), 其余指标均无显著变化($P > 0.05$); 中浓度盐胁迫组(200 和 300 mmol/L)葎草幼苗根、茎、叶生物量和 R/S 都比 CK 显著下降, 单叶面积和 SLA 仅在 300 mmol/L 下比 CK 显著下降; 高浓度盐胁迫组(400 mmol/L)葎草幼苗根、茎、叶的干重分别比 CK 显著降低了 83.70%、66.96%、82.48%, SLA 和 R/S 也分别比 CK 显著降低了 59.23% 和 59.77%, 但单叶面积与 CK 没有显著差异。以上结果说明中高浓度的 NaCl 胁迫显著抑制了葎草幼苗的生长并改变了叶片的性状特征。

2.2 NaCl 胁迫对葎草幼苗气体交换参数和叶水势的影响

首先, 随着 NaCl 胁迫浓度的增加, 葎草幼苗的 P_n 、 G_s 和 T_r 均呈现出持续下降的趋势, 而其 C_i 则先升高后降低, 但它们均在高浓度盐胁迫处理(400 mmol/L)时达到最小值(表 2)。其中, 幼苗 P_n 、 G_s 、 C_i 和 T_r 在低浓度盐胁迫时均比 CK 不同程度升高, 但仅 C_i 增幅达到显著水平; 在中浓度盐胁迫(200 和 300 mmol/L)时, 幼苗 P_n 、 G_s 和 T_r 均比低浓度盐胁迫时不同程度下降, 在 200 mmol/L 处理下降幅度均达到显著水平, 而 C_i 先升后降且无显著变化, 但各指标除 200 mmol/L 处理的 C_i 外均与相应 CK 无显著差异; 在高浓度盐胁迫处理时, 幼苗 P_n 、 G_s 、 C_i 和 T_r 降到最低值, 它们均显著低于低浓度盐胁迫处理, 且 P_n 和 T_r 已显著低于 CK 水平。由此可见, 葎草幼苗的 P_n 、 G_s 、 C_i 和 T_r 在低浓度 NaCl 胁迫下受到不同程度促进, 而中浓度 NaCl 胁迫下大多

表 1 NaCl 胁迫对葎草幼苗生物量及叶生长的影响

Table 1 Dry mass and leaf growth of *H. scandens* seedling under NaCl stress

浓度 Concentration (mmol·L ⁻¹)	根干重 Root dry mass /g	茎干重 Stem dry mass /g	叶干重 Leaf dry mass /g	单叶面积 Single leaf area /cm ²	比叶面积 Specific leaf area (SLA, g·cm ⁻²)	根冠比 Root/shoot ratio(R/S)
CK	4.64±0.34a	51.76±3.49a	35.27±0.09a	15.31±0.73b	5.98±0.61c	0.87±0.11a
100	4.65±0.90a	46.25±2.51a	29.47±0.52a	18.10±0.05a	6.41±0.07c	0.76±0.06ab
200	2.70±0.12b	24.38±2.60b	17.87±1.92b	16.48±0.28b	7.44±0.19c	0.52±0.14bc
300	0.91±0.02bc	14.52±0.15b	11.36±3.01bc	13.63±0.03c	11.18±0.31a	0.34±0.01c
400	0.75±0.12c	17.10±4.46b	6.18±1.57c	16.17±0.12b	9.38±0.77b	0.35±0.01c

注: 每个指标的统计结果为所有数据之间的比较, 不同小写字母表示在 0.05 水平有显著差异, 下同。

Note: Different normal letters mean significant differences among treatments at 0.05 level; The same as below.

表 2 NaCl 胁迫下葎草幼苗的气体交换参数

Table 2 Gas exchange characteristics of *H. scandens* seedling under NaCl stress

NaCl 浓度 Concentration (mmol·L ⁻¹)	净光合速率 P_n / (μmol·m ⁻² ·s ⁻¹)	气孔导度 G_s / (mmol·m ⁻² ·s ⁻¹)	胞间 CO ₂ 浓度 C_i / (μmol·m ⁻² ·s ⁻¹)	蒸腾速率 T_r / (mmol·m ⁻² ·s ⁻¹)	气孔限制值 L_s /%	瞬时水分利用效率 WUE_i / (μmol·mmol)	叶水势 Ψ_w /MPa
CK	7.34±0.28ab	0.20±0.004abc	259.85±10.13bc	2.59±0.05ab	0.32±0.03ab	2.84±1.176b	-1.75±0.18ab
100	8.38±0.24a	0.40±0.084a	316.77±17.33a	3.02±0.12a	0.17±0.04c	2.78±0.19b	-1.50±0.03a
200	6.19±0.54bc	0.36±0.081ab	330.44±7.83a	2.68±0.39a	0.13±0.02c	2.40±0.36b	-2.20±0.02bc
300	5.92±0.58bc	0.15±0.003bc	297.97±7.68ab	1.76±0.01bc	0.22±0.02bc	3.37±0.36b	-2.39±0.11cd
400	5.56±0.71c	0.07±0.006c	227.01±23.75c	0.97±0.06c	0.40±0.06a	5.77±1.09a	-2.72±0.218d

未受到显著影响,而在高浓度 NaCl 胁迫下大幅下降,其净光合速率和蒸腾速率受到显著抑制。

其次,经过 NaCl 胁迫后,葎草幼苗叶片气孔限制值(L_s)和瞬时水分利用效率(WUE_i)呈现出先降后升的变化趋势,并分别在浓度 200 和 400 mmol/L 时达到最低和最高值,而叶水势(Ψ_w)却表现出逐渐降低的趋势,并在 400 mmol/L 胁迫时达到最小值(表 2)。其中,与 CK 相比较,葎草幼苗 L_s 在 100 和 200 mmol/L NaCl 胁迫时显著下降,降幅分别为 46.88% 和 59.38%,而在 300 和 400 mmol/L 浓度下无显著变化;葎草幼苗 WUE_i 在中低浓度盐胁迫(100~300 mmol/L)下均无显著变化,仅在高浓度盐胁迫下比对照显著升高 103.17%;葎草幼苗 Ψ_w 在 100 和 200 mmol/L NaCl 胁迫时与对照相比无显著变化,在 300 和 400 mmol/L 盐胁迫下比 CK 分别显著降低 26.57% 和 55.43%。以上结果表明,葎草植株生长在低浓度 NaCl 胁迫时不受气孔因素的影响,而在中浓度 NaCl 胁迫时气孔限制是导致其 P_n 降低的主要因素,且在高浓度盐胁迫下还显著降低了其叶水势,从而显著提高了幼苗瞬时水分利用效率。

2.3 NaCl 胁迫对葎草幼苗叶绿素含量的影响

经过 NaCl 胁迫后,葎草幼苗叶片叶绿素 a(Chl a)、叶绿素 b(Chl b)、叶绿素 a/b(Chl a/b)、类胡萝卜素(Chl x)、总叶绿素(Chl a+b)等光合色素含量

均呈持续下降的趋势,且在不同处理间变化幅度大多达到显著水平($P<0.05$),并且在 400 mmol/L 时达到最低值(表 3)。其中,在低浓度 NaCl 胁迫下,除 Chl a/b 比 CK 显著提高 3.85% 之外,葎草幼苗其余参数均与 CK 无显著差异;在中高浓度盐胁迫下,葎草幼苗叶片 Chl a、Chl b、Chl a/b、Chl x 和 Chl a+b 均比 CK 显著降低,且盐浓度越高降幅越大,如它们在高浓度盐胁迫(400 mmol/L)时降幅分别为 34.62%、48.65%、6.41%、28.38% 和 40.32%。可见,葎草幼苗的光合色素含量及比值随着 NaCl 浓度的递增而减少,但其受低浓度 NaCl 胁迫的影响较小,而在中高浓度 NaCl 胁迫则受到显著抑制。

2.4 NaCl 胁迫对葎草幼苗叶绿素荧光参数的影响

2.4.1 F'_o 、 F'_m 、 F_o 、 F_m 、 F_v 和 E_{TR} 光下最小荧光(F'_o)是光适应状态下全部 PS II 中心都开放时的荧光强度,而光下最大荧光(F'_m)受非光化学猝灭的影响^[24],初始荧光(F_o)反映的是 PS II 反应中心完全开放时的荧光产量,而最大荧光(F_m)则反映的是 PS II 反应中心完全关闭时的荧光产量^[25]。由表 4 可知,葎草幼苗的 F'_o 和 F'_m 随 NaCl 胁迫浓度的增加呈逐渐减弱的趋势,但仅在高浓度盐胁迫(400 mmol/L)下降幅才达到显著水平($P<0.05$),此时两者分别比 CK 显著下降了 18.75% 和 30.95%。同时,随着 NaCl 胁迫浓度的增加,葎草幼苗的 F_o 和

表 3 NaCl 胁迫对葎草幼苗叶绿素含量的影响

Table 3 Chlorophyll pigment contents and MDA content of *H. scandens* seedling under NaCl stress

NaCl 浓度 Concentration (mmol/L)	叶绿素 a Chl a (mg/g)	叶绿素 b Chl b (mg/g)	叶绿素 a/b Chl a/b/(mg/g)	类胡萝卜素 Carotenoid (mg/g)	叶绿素 a+b Chl a+b/(mg/g)
CK	0.78±0.02ab	0.37±0.03a	2.34±0.01b	4.44±0.01ab	1.24±0.11a
100	0.83±0.01a	0.34±0.01a	2.43±0.01a	4.82±0.07a	1.26±0.08a
200	0.74±0.02bc	0.24±0.01b	2.27±0.01c	3.83±0.11bc	0.93±0.09b
300	0.68±0.02c	0.23±0.01b	2.14±0.03d	3.44±0.29c	0.97±0.01b
400	0.51±0.01d	0.19±0.03b	2.19±0.01d	3.18±0.50c	0.74±0.01b

表 4 NaCl 胁迫对葎草幼苗叶绿素荧光参数的影响

Table 4 Chlorophyll fluorescence parameters of *H. scandens* seedling under NaCl stress

NaCl 浓度 NaCl Concentration (mmol/L)	光下最小荧光 Actual minimum fluorescence (F_0') / nm	光下最大荧光 Actual maximal fluorescence (F_m') / nm	可变荧光 Variable fluorescence (F_v) / nm	初始荧光 Original fluorescence (F_0) / nm	最大荧光 Maximum fluorescence (F_m) / nm	表观光合电 子传递速率 Electron transport rate (E_{TR}) ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
CK	189.33±15.33ab	553.00±39.67ab	376.00±48.67cd	164.67±1.67b	482.17±65.17c	6.50±0.03b
100	216.33±11.67a	650.33±37.33a	325.33±19.33d	134.17±7.17c	590.50±7.50bc	7.00±0.77b
200	187.17±4.83ab	548.67±23.00ab	452.67±30.00c	174.83±1.66b	659.50±38.17b	7.90±0.90b
300	178.33±12.33bc	453.17±5.83bc	760.17±12.83a	185.33±1.01b	947.17±14.50a	12.47±0.27a
400	153.83±6.17c	381.83±17.50c	632.67±1.33b	211.50±13.50a	831.33±27.67a	14.22±0.08a

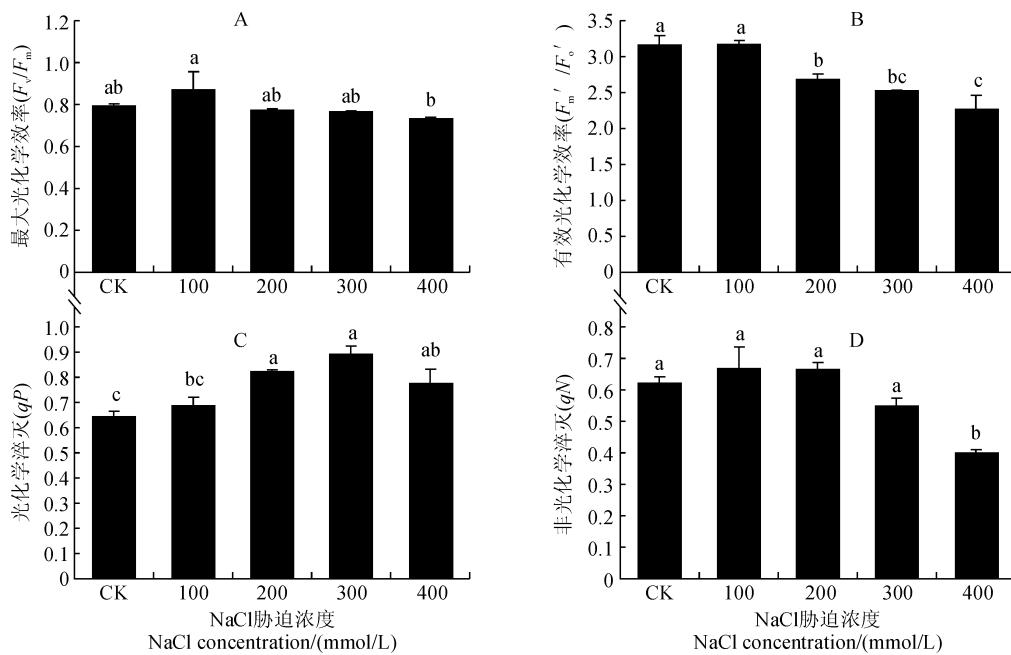
E_{TR} 均呈逐渐上升的趋势,而其 F_m 和 F_v 则呈先升后降的变化规律,并在 300 mmol/L NaCl 胁迫下达到最大值(表 4),其中,在较低浓度 NaCl 胁迫下,葎草幼苗仅 F_v 比 CK 显著下降,其余参数差异不显著;而在中等浓度 NaCl 胁迫下,其 F_v 与 CK 差异不显著, F_v 、 F_m 和 E_{TR} 在 300 mmol/L 时均比 CK 显著上升;在高浓度 NaCl 胁迫下,其幼苗 F_v 、 F_m 和 E_{TR} 均显著高于 CK。以上结果说明葎草幼苗的 PS II 反应中心的最大荧光强度和最小荧光强度受到了 NaCl 胁迫影响,且荧光强度随着胁迫浓度的加剧而减弱;同时其 F_v 和 F_m 随着 NaCl 胁迫浓度的增加而增强,但低 NaCl 胁迫下葎草幼苗的光合机构受到的影响较小,而中高浓度的 NaCl 胁迫则显著抑制了光合碳代谢的电子供应,造成了 PS II 反应中心的部分失活或损伤,减弱了光能的利用效率。

2.4.2 F_v/F_m 、 F_m'/F_0' 、 qP 和 qN F_v/F_m 被称为开放的 PS II 反应中心的能量捕捉效率,一般在 0.75 ~ 0.85 之间; F_m'/F_0' 反映了光下开放的 PS II 反应中心的原初光能捕获效率^[24]; qP 和 qN 也可用于反映光下 PS II 的运转状况。 qP 在一定程度上反映了 PS II 反应中心的开放程度, qN 则反映的是 P 天线色素吸收的不能用于光合电子传递而以热耗散掉的部分光能^[25]。首先,葎草幼苗的 F_v/F_m 在不同浓度的 NaCl 胁迫下与对照均没有显著差异,但总体上

却随盐浓度升高呈现出逐渐降低的趋势,这说明葎草的 PS II 对 NaCl 胁迫具有较强的抗性(图 1,A)。其次, F_v'/F_m' 随着 NaCl 胁迫浓度的递增而逐渐递减,且在中高盐浓度胁迫下比对照显著降低,如盐浓度达到 200 mmol/L 时降幅为 17.84%,即葎草幼苗在中高浓度 NaCl 胁迫下原初光能转换效率显著下降,电子传递和光化学效率也显著降低(图 1,B)。同时,随着 NaCl 胁迫浓度的增加,葎草幼苗 qP 呈先上升后降低的趋势,但各盐胁迫处理均不同程度高于 CK,且中高浓度盐胁迫下达到显著水平($P < 0.05$),并在 300 mmol/L 时升到最高值(图 1,C)。另外,葎草幼苗 qN 随 NaCl 胁迫浓度升高呈逐渐下降的趋势,但仅在 400 mmol/L 浓度时降幅达到显著水平,此时比相应 CK 显著下降了 55.00%(图 1,D)。以上结果表明,葎草幼苗在低浓度 NaCl 胁迫下仍具有较好的光化学性能,而中高浓度的 NaCl 胁迫则破坏了植株的部分光合机构,减弱了 PS II 反应中心对光能的吸收、传递和转化,降低了光化学反应中心的热耗散能力。

2.5 NaCl 胁迫对葎草幼苗抗氧化酶活性及 MDA 含量的影响

SOD 和 POD 常被作为判断植物抗逆性强弱的指标,CAT 是植物细胞内重要的活性氧清除剂,它们在清除自由基方面发挥着重要作用,而 MDA 则是



不同小写字母表示处理间在 0.05 水平存在显著性差异。下同

图 1 NaCl 胁迫下葎草幼苗的光系统Ⅱ反应中心特征

The different normal letters on each column indicate significant difference among treatments at 0.05 level. The same as below

Fig. 1 PS II characteristics of the *H. scandens* seedling under NaCl stress

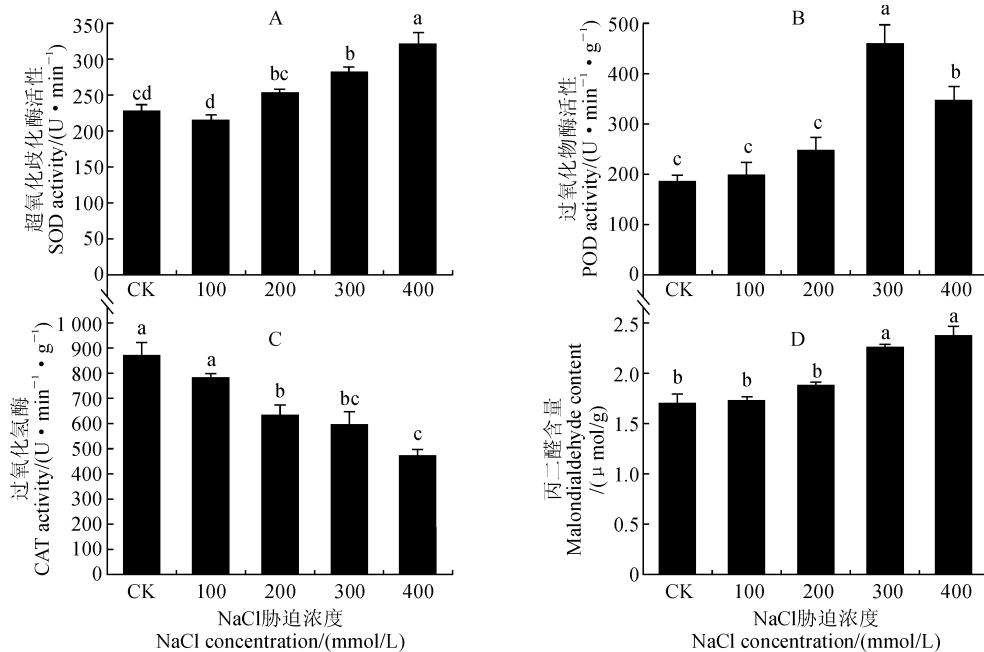


图 2 NaCl 胁迫对葎草幼苗的抗氧化酶活性及 MDA 含量的影响

Fig. 2 Root fresh weight and stem length of *H. scandens* seedling under NaCl stress

膜质过氧化产物之一,其含量高低表示细胞膜质过氧化的程度。首先,随着 NaCl 胁迫浓度的增加,葎草幼苗 SOD 活性呈逐渐增加的趋势,并在 300 和 400 mmol/L 浓度比 CK 显著增加,增幅分别为 23.83% 和 41.20% (图 2,A)。其次,葎草幼苗 POD 活性在各浓度的 NaCl 胁迫下呈上下波动的变化规

律,但均不同程度地高于对照,而仅在 300 和 400 mmol/L 浓度处理下达到显著水平,并在 300 mmol/L 时达到最大值;当高浓度(400 mmol/L)盐胁迫时,幼苗 POD 活性略有下降,但仍比 CK 显著增加上升了 86.67% (图 2,B)。同时,葎草幼苗 CAT 活性随着盐胁迫浓度的增加而呈逐渐下降的

趋势,且不同胁迫浓度处理均不同程度低于对照,且在中高浓度盐胁迫下达到显著水平($P<0.05$),其在300和400 mmol/L浓度时分别较CK显著降低31.43%和45.71%(图2,C)。另外,葎草幼苗MDA含量随着NaCl胁迫浓度的增加呈逐渐上升的趋势,并不同程度地高于对照,但在100和200 mmol/L浓度时与CK没有显著差异,仅在300和400 mmol/L NaCl胁迫处理时才比CK分别显著上升了33.53%和40.00%(图2,D)。以上结果表明,低浓度NaCl胁迫对葎草幼苗的抗氧化酶系统影响较小,而中高浓度NaCl胁迫引起幼苗体内超氧阴离子水平提高,其细胞膜结构受到损伤,膜质过氧化加剧;但葎草植株在NaCl胁迫下仍具有清除H₂O₂的能力,且能够依靠自身的防御体系抵御盐害。

3 讨 论

生物量是植物NaCl胁迫反应的综合体现,更是植物耐盐性的直接指标^[26]。本研究中,葎草幼苗在低浓度(100 mmol/L)NaCl胁迫下,其根、茎、叶的干重、单叶面积、SLA和R/S均没有显著变化(表1)。因此,我们推测低NaCl浓度没有影响其光合生理的变化。进而,我们通过对气体交换参数、叶水势、叶绿素含量和叶绿素荧光参数的测定结果发现, P_n 、 G_s 、 C_i 、 T_r 、 WUE_i 和 Ψ_w 均无显著变化,除 L_s 和 F_0 显著降低, C_i 和Chl a/b显著升高之外,其余叶绿素荧光参数和叶绿素含量也没有显著变化。由于 F_0 是初始荧光,是光系统PSⅡ反应中心处于完全开放时的荧光产量,它与叶片叶绿素浓度有关^[24]。热耗散时常导致 F_0 值下降,PSⅡ反应中心的破坏或可逆失活则能引起 F_0 值增加^[27]。由此表明,低NaCl浓度下葎草幼苗的Chl a/b值升高引起其捕获、转化光能的能力升高,可能导致了热耗散增加。与此同时,低NaCl胁迫下葎草幼苗叶片的气孔开度增加, C_i 上升,引起 L_s 降低。另外,抗氧化酶活性和MDA含量在低NaCl浓度下也无显著差异。因此,本研究结果表明,低NaCl浓度对植株幼苗没有显著影响。这与低盐胁迫下头状沙拐枣(*Calligonum caput-medusae*)和骆驼刺(*Alhagi pseudocalhagi*)幼苗的生长状况也较为相似^[8-9]。

同时,在中浓度(200~300 mmol/L)NaCl胁迫下,葎草幼苗的生物量显著下降,叶生长明显减小(表1), P_n 、 L_s 和 Ψ_w 显著降低, C_i 增加, WUE_i 没有显著变化(表2)。根据Farquhar和Sharkey的观点^[28],如果叶片光合速率的降低伴随有 C_i 的提高,

那么光合作用的主要限制因素肯定是非气孔因素。因此,中浓度NaCl胁迫下引起 P_n 降低的非气孔因素主要包括叶肉细胞光合活性下降、CO₂扩散阻力增大,以及PSⅡ反应中心活性下降、RuBP再生受阻和光暗呼吸变化等^[29]。与此同时,我们也通过测定叶绿素荧光参数和抗氧化酶活性以及MDA含量得以证实,在中浓度NaCl胁迫下,葎草幼苗的 F'_0 、 F'_m 、CAT、 F'_m/F'_0 、qN显著下降, F_0 、 F_v 、 F_m 、 E_{TR} 、qP、SOD、POD和MDA显著增加, F_v/F_m 没有变化(表4,图1,2)。 F'_v/F'_m 反映了光下开放的PSⅡ反应中心的激发能捕获效率。葎草幼苗在中度NaCl胁迫后 F'_v/F'_m 值降低,反映出其PSⅡ反应中心受到部分损伤。同时,qN和qP也可用于反映光下PSⅡ的运转状况。qP反映了PSⅡ原初电子受体Q_A还原状态,qP愈大,PSⅡ的电子传递活性愈大^[25]。qN则反映的是P天线色素吸收的不能用于光合电子传递而以热耗散掉的光能部分^[25]。本研究中,葎草幼苗qP随着盐浓度的增加而上升,qN却下降,这与文笑和Szopkó等^[3,6]的研究结论不一致。究其原因,可能是中度NaCl胁迫下葎草幼苗光呼吸增强和CO₂固定能力下降引起了C_i升高,在CO₂供应不足的条件下,为保持一定的电子传递速率和消耗部分激发能,因而提高了PSⅡ电子传递能力,即qP上升。另一方面,中浓度NaCl胁迫还会打破幼苗叶绿素代谢平衡,其叶片Chl a、Chl b、Chl a/b、Chl x和Chl a+b也显著下降(表3),光合色素的这一变化趋势与荒漠豆科植物和黑吉豆(*Vigna mungo*)等的研究结论相吻合^[27,30]。同时,作为膜受害的另一个指标,葎草幼苗脂质过氧化产物MDA含量也显著上升(图2)。此外,CAT的下降则可能是一种积极主动的防御反应,说明葎草幼苗叶片中CAT比SOD、POD对中浓度NaCl胁迫反应更敏感^[7,29]。当葎草幼苗体内超氧阴离子水平提高时,SOD活性增加,表明NaCl胁迫下葎草幼苗具有清除H₂O₂的能力,且能够依靠自身的防御体系抵御盐害,因而POD活性也显著上升。这可能是葎草幼苗对NaCl胁迫的一种主动适应性机制。

另外,在高浓度(400 mmol/L)NaCl胁迫下,我们通过测定葎草幼苗气体交换参数和叶水势发现,高浓度NaCl胁迫下 P_n 、 G_s 、 C_i 、 T_r 和 Ψ_w 减至最低,但 L_s 和 WUE_i 却升至最高。但此浓度下 C_i 与CK却没有显著差异,因此,我们认为在高浓度NaCl胁迫下,葎草幼苗 P_n 的降低主要是由于 G_s 下降所引起的气孔因素^[28],但可能还包括改变植株单叶面

积、 Ψ_w 和叶绿素荧光参数等非气孔因素。然而,这却与朴树(*Celtis sinensis*)和速生白榆(*Ulmus pumila*)在中高盐浓度时 P_n 的降低主要为非气孔因素限制的结论不一致,限制光合作用的气孔和非气孔因素可能还与盐浓度大小、胁迫时间长短和植物种类有关^[31]。Jones 等^[32]认为气孔的开关还受植物 Ψ_w 变化的控制,当 Ψ_w 下降到一定阈值后气孔关闭。而本研究中高浓度 NaCl 胁迫后 Ψ_w 降至最低值,可能是盐分增大时,植株叶片的叶或茎部的非原质体内溶解了部分 Na^+ 、 K^+ 离子,溶液浓度增大导致 ψ_w 下降,这也与 Donovan 等^[33]的研究结论一致。此外,在实验中我们还观测到高 NaCl 胁迫后,葎草幼苗单叶面积略有变大,叶片变薄,因而用于构建防护结构碳也变少,叶干重也就变低,这也与我们的推测相吻合。

本研究还发现,高浓度 NaCl 胁迫时,葎草幼苗的 F_v 、 F_m 、 F_o 和 E_{TR} 显著增高, F_v' 、 F_m' 、 F_m'/F_o' 和 qN 显著下降, qP 略有降低。这可能是高 NaCl 胁迫后 PS II 反应中心天线色素因吸收过量的光能,对光合机构造成了不可逆失活^[34],最终 qN 下降, E_{TR} 和 F_o 显著升高。植物通过这种光保护机制的协同作用,最大可能地避免和减少光抑制所造成的伤害。同时,高浓度 NaCl 胁迫还抑制植物叶片的光能转化和能量提供能力,我们发现高浓度 NaCl 胁迫下 Chl a、Chl b、Chl a/b、Chl x、Chl a+b 显著降低,说

明高浓度 NaCl 胁迫破坏了植物叶绿体色素合成酶,造成了叶绿素合成受阻,还同时加速了叶绿素的分解^[3,29]。这也可能是引起葎草幼苗光合能力下降的原因之一。另一方面,高浓度 NaCl 胁迫时,植物细胞可通过多种途径产生 O_2^- 、 H_2O_2 等活性氧,进而生成毒性更强的羟自由基($\cdot \text{OH}$),使脂肪酸转化为有毒的过氧化物,破坏生物膜,造成 MDA 的累积^[35]。本实验结果证实了这一观点:高 NaCl 胁迫时 SOD 活性、POD 活性和 MDA 含量显著增高,CAT 活性显著降低,说明自由基的积累已引发膜质过氧化,膜透性也已增高,同时通过降低 CAT 活性以增加 H_2O_2 的累积,使细胞膜结构受到损伤导致叶脱落,从而避免整株植株死亡^[3,29]。这与鹰嘴豆的变化较为相似^[36]。这表明高浓度 NaCl 胁迫下葎草幼苗具有一定的耐盐对策和适应机制,但其耐盐阈值还有待进一步研究。

综上所述,低浓度 NaCl 胁迫对葎草幼苗生长没有影响,光合速率和叶绿素含量以及叶绿素荧光参数也没有显著变化,其抗氧化酶系统和 MDA 含量也没有显著差异。中浓度 NaCl 胁迫通过减少叶绿素含量,减弱 PS II 反应中心和光合电子传递速率,降低了葎草幼苗的净光合速率,抑制了植株生长。高浓度 NaCl 胁迫则导致叶水势显著降低,光合机构不可逆失活,膜质过氧化加剧,叶绿素合成受阻,净光合速率降至最低,植物生长受到严重抑制。

参考文献:

- [1] BHATNAGAR-MATHUR P, VADEZ V, SHARMA K K. Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: retrospect and prospects[J]. *Plant Cell Reports*, 2008, **27**(3): 411-424.
- [2] 王宝山,赵可夫,邹琦.作物耐盐机理研究进展及提高作物抗盐性的对策[J].植物学报,1997,**14**(S1): 26-31.
WANG B S, ZHAO K F, ZOU Q. Advances in mechanism of crop salt tolerance and strategies for raising crop salt tolerance [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 1997, **14** (S1): 26-31.
- [3] 文笑.盐胁迫对台湾桤木幼苗生理生化和光合特性影响的研究[D].福州:福建农林大学,2011.
- [4] 张金林,李惠茹,郭妹媛,等.高等植物适应盐逆境研究进展[J].草业学报,2015,**24**(12): 220-236.
ZHANG J L, LI H R, GUO S Y, et al. Research advances in higher plant adaptation to salt stress[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2015, **24**(12): 220-236.
- [5] 唐玲,李倩中,荣立萍,等.盐胁迫对鸡爪槭幼苗生长及其叶绿素荧光参数的影响[J].西北植物学报,2015,**35**(10): 2 050-2 055.
TANG L, LI Q Z, RONG L P, et al. Effects of salt stress on the growth and leaf chlorophyll fluorescence in *Acer palmatum* seedlings[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.*, 2015, **35**(10): 2 050-2 055.
- [6] SZOPKÓ D, DARKÓ É, MOLNÁR I, et al. Photosynthetic responses of a wheat (*Asakaze*)-barley (*Manas*) 7H addition line to salt stress[J]. *Photosynthetica*, 2016, **16**: 1-13.
- [7] SINGH A, SHARMA P C, KUMAR A, et al. Salinity induced changes in chlorophyll pigments and ionic relations in baobab (*Aegle marmelos* Correa) cultivars[J]. *Journal of Soil Salinity and Water Quality*, 2015, **7**(1): 40-44.
- [8] LU Y, LEI J Q, ZENG F J, et al. Effect of NaCl-induced changes in growth, photosynthetic characteristics, water status and enzymatic antioxidant system of *Calligonum caput-medusae* seedlings[J]. *Photosynthetica*, 2016, **26**: 1-12.
- [9] KURBAN H, SANEOKA H, NEHIRA K, et al. Effect of salinity on growth, photosynthesis and mineral composition in leguminous plant *Alhagi pseudoalhagi* (Bieb.)[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 1999, **45**(4): 851-862.
- [10] STRESE E M K, LUNDSTRÖM M, HAGENBLAD J, et al.

- al. Genetic diversity in remnant swedish Hop (*Humulus lupulus L.*) yards from the 15th to 18th century[J]. *Economic Botany*, 2014, **68**(3): 231-245.
- [11] BLAND J S, MINICH D, LERMAN R, et al. Isohumulones from hops (*Humulus lupulus*) and their potential role in medical nutrition therapy[J]. *Pharma Nutrition*, 2015, **3**(2): 46-52.
- [12] 徐博,金英今,王一涵,等.葎草茎叶化学成分研究[J].中草药,2014, **45**(9): 1 228-1 231.
- XU B, JIN Y J, WANG Y H, et al. Chemical constituents from stems and leaves of *Humulus scandens* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2014, **45**(9): 12 28-1 231.
- [13] FENG J, HU M, JIN Y J, et al. Radical scavenging constituents from leaf of *Humulus scandens* [J]. *Asian Journal of Chemistry*, 2016, **28**(8): 1 820-1 822.
- [14] 杨帅,王碧霞,胥晓,等.葎草幼苗开花物候和花器官对干旱的响应差异[J].植物分类与资源学报,2014, **36**(5): 653-660.
- YANG S, WANG B X, XU X, et al. Sex-specific responses of flowering phenology and floral morphology of *Humulus scandens* to drought [J]. *Plant Diversity and Resources*, 2014, **36**(5): 653-660.
- [15] 王碧霞,胥晓,李霄锋.葎草幼苗光合生理特性对铬胁迫的响应[J].草业学报,2014, **23**(4): 181-188.
- WANG B X, XU X, LI X F. Physiological and ecophysiological responses of *Humulus scandens* seedlings to chromium stress[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2014, **23**(4): 181-188.
- [16] PARIDA A K, DAS A B, MITTRA B. Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora* [J]. *Trees*, 2004, **18**(2): 167-174.
- [17] BERRY J A, DOWNTON W J S. Environmental regulation of photosynthesis[J]. *Photosynthesis*, 1982, **2**: 263-343.
- [18] ARNON D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris* [J]. *Plant Physiology*, 1949, **24**: 1-15.
- [19] LICHTENTHALER, H K. Chlorophyll and carotenoids; pigments of photosynthetic biomembranes[J]. *Methods in Enzymology*, 1987, **148**: 350-382.
- [20] STEWART R R C, BEWLEY J D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes[J]. *Plant Physiology*, 1980, **65**(2): 245-248.
- [21] GIANNOPOLITIS C N, RIES S K. Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants[J]. *Plant Physiology*, 1977, **59**(2): 309-314.
- [22] CHANCE M, MAEHLY AC. Assay of catalases and peroxidases[J]. *Methods Enzymol*, 1955, **2**: 764-817.
- [23] 李合生,孙群,赵世杰,等.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000: 165-167.
- [24] 张守仁.叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论[J].植物学通报,1999, **16**(4): 444-448.
- ZHANG S R. A discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 1999, **16**(4): 444-448.
- [25] 陈建明,俞晓平,程家安.叶绿素荧光动力学及其在植物抗逆生理研究中的应用[J].浙江农业学报,2006, **18**(1): 51-55.
- CHEN J M, YU X P, CHENG J A. The application of chlorophyll fluorescence kinetics in the study of physiological responses of plants to environmental stresses[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2006, **18**(1): 51-55.
- [26] BOSCAIU M, ESTRELLES E, et al. Effects of salt stress on the reproductive biology of the halophyte *Plantago crassifolia* [J]. *Biologia Plantarum*, 2005, **49**(1): 141-143.
- [27] 韩张雄,李利,徐新文,等. NaCl对4种荒漠豆科植物幼苗生理参数的影响[J].植物学报,2012, **47**(5): 491-499.
- HAN Z X, LI L, XU X W, et al. Effect of NaCl on physiological features of 4 legume seedlings in desert areas of Xinjiang, China[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2012, **47**(5): 491-499.
- [28] FARQUHAR G D, SHARKEY T D. Stomatal conductance and photosynthesis[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1982, **33**(1): 317-345.
- [29] 陆开形.盐胁迫对大豆光合作用和抗氧化系统的影响及其调控机制[D].杭州:浙江大学,2008.
- [30] WIN K T, OO A Z, OOKAWA T, et al. Changes in hydraulic conductance cause the difference in growth response to short-term salt stress between salt-tolerant and-sensitive black gram (*Vigna mungo*) varieties[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2016, **193**: 71-78.
- [31] 周丹丹,刘德玺,李存华,等.盐胁迫对朴树和速生白榆幼苗光合特性及叶绿素荧光参数的影响[J].西北植物学报,2016, **36**(5): 1 004-1 011.
- ZHOU D D, LIU D X, LI C H, et al. Photosynthetic characteristics and chlorophyll fluorescence parameters of *Celtis sinensis* and *Ulmus pumila* L. seedling under salt stress[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.*, 2016, **36**(5): 1 004-1 011.
- [32] JONES H G, LAKSO A N, SYVERTSEN J P. Physiological control of water status in temperate and subtropical fruit trees[J]. *Horticultural Reviews*, 1985, **7**: 301-344.
- [33] DONOVAN L A, GRISE D J, WEST J B, et al. Predawn disequilibrium between plant and soil water potentials in two cold-desert shrubs[J]. *Oecologia*, 1999, **120**(2): 209-217.
- [34] LEVITT J. Responses of Plants to Environmental Stresses. Volume II. Water, Radiation, Salt, and Other Stresses[M]. New York: Academic Press, 1980.
- [35] CHAPARZADEH N, D'AMICO M L, KHAVARI-NEJAD R A, et al. Antioxidative responses of *Calendula officinalis* under salinity conditions[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2004, **42**(9): 695-701.
- [36] SHANKAR V, KUMAR D, AGRAWAL V. Assessment of antioxidant enzyme activity and mineral nutrients in response to NaCl stress and its amelioration through glutathione in Chickpea[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2016, **178**(2): 267-284.

(编辑:裴阿卫)