

外源 CaCl_2 缓解东京四照花幼苗 盐胁迫的生理机制

孙大伟^{1,2}, 杨 玲³, 毛 霞⁴, 刘国华⁴, 洪香香^{1,2*}

(1 南京林业大学 林学院, 南京 210037; 2 南京林业大学 南方现代林业协同创新中心, 南京 210037; 3 上海市野生动植物和自然保护研究中心, 上海 202150; 4 江苏农林职业技术学院 风景园林学院, 江苏镇江 212400)

摘 要:以东京四照花(*Cornus hongkongensis* subsp. *tonkinensis*)幼苗为试验材料,考察施用外源 CaCl_2 对 3‰ 海盐处理条件下东京四照花幼苗生长、光合色素含量、光合气体交换参数、渗透调节物质含量等生理指标的变化特征,探讨外源 CaCl_2 对盐胁迫伤害的缓解效果及生理机制。结果表明:(1)3‰ 海盐胁迫处理下,东京四照花幼苗生长受到显著抑制,其叶片丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性以及渗透调节物质可溶性糖、可溶性蛋白及脯氨酸的含量均显著增加,而叶片光合色素含量、胞间二氧化碳浓度(C_i)、净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)和蒸腾速率(T_r)显著降低。(2)3‰ 海盐和 CaCl_2 复合处理下,施用低浓度($10\sim 20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)外源 CaCl_2 降低了幼苗的盐害率和死亡率,促进了幼苗的叶片和植株生物量积累,但降低了可溶性蛋白含量;中低浓度外源 CaCl_2 均显著降低了幼苗叶片的 MDA 含量与 SOD 活性,而施用中浓度($30\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)外源 CaCl_2 则提高了幼苗叶片叶绿素 b 和总光合色素的含量;所有浓度的外源 CaCl_2 处理均有效增强了幼苗叶片 C_i 、 P_n 、 G_s 和 T_r ,但低浓度处理的效果显著优于中高浓度处理;高浓度 CaCl_2 ($40\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)对盐胁迫幼苗的各项生理指标均未产生有效的缓解作用。研究发现,适宜浓度($10\sim 20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)外源 CaCl_2 可以通过减少光合色素的分解,提高光合速率,抑制活性氧的积累,维持质膜稳定性来降低盐胁迫的伤害,从而降低幼苗的盐害率和死亡率,有效缓解盐胁迫对东京四照花的抑制作用。

关键词:东京四照花;盐胁迫; CaCl_2 ;光合作用;抗逆生理

中图分类号:Q945.79; S727.5 **文献标志码:**A

Physiological Mechanism of CaCl_2 Application Relieving Salt-stressed Seedlings of *Cornus hongkongensis* subsp. *tonkinensis*

SUN Dawei^{1,2}, YANG Ling³, MAO Xia⁴, LIU Guohua⁴, FU Xiangxiang^{1,2*}

(1 College of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2 Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 3 Shanghai Wildlife and Protected Natural Areas Research Center, Shanghai 202150, China; 4 College of Landscape Architecture, Jiangsu Vocational College of Agriculture and Forestry, Zhenjiang, Jiangsu 212400, China)

Abstract: In this study, the responses of CaCl_2 addition to seedlings of *Cornus hongkongensis* subsp. *tonkinensis*, which were subjected to 3‰ salt stress, were evaluated by physiological indexes, including seedling growth, photosynthetic pigment content, photosynthetic gas exchange parameters and osmotic

收稿日期:2022-07-31;修改稿收到日期:2022-11-25

基金项目:江苏省林业科技创新与推广项目(LYKJ[2018]06);江苏高校优势学科建设工程项目(PAPD)

作者简介:孙大伟(1997—),男,在读硕士研究生,主要研究方向为人工林定向培育。E-mail:sundw1119@163.com

* 通信作者:洪香香,教授,博士生导师,主要研究方向为人工林定向培育。E-mail:xxfu@nifu.edu.cn

regulation substance content, etc. The main results were: (1) 3‰ sea salt stress significantly inhibited seedling growth, increased the contents of malondialdehyde (MDA), soluble sugar, soluble protein, proline and activity of superoxide dismutase (SOD), increased photosynthetic pigment synthesis, photosynthetic parameters including intercellular carbon dioxide concentration (C_i), net photosynthetic rate (P_n), stomatal conductance (G_s) and transpiration rate (T_r). (2) For alleviating treatments with CaCl_2 to stressed seedlings by 3‰ salt, application of CaCl_2 with low concentration ($10-20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) to stressed seedlings reduced the salt damage rate and mortality rate, decreased SP content and further promoted leaf and plant biomass of seedlings. Correspondingly, MDA content in alleviated seedlings was significantly decreased at medium and low concentrations of CaCl_2 . Alleviator with medium concentration ($30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) promoted the synthesis of chlorophyll B and total photosynthetic pigment. C_i , P_n , G_s and T_r in stressed seedlings were effectively enhanced in all alleviating treatments. Comparatively, the effects at low concentration of CaCl_2 on alleviating stress were significantly superior to that at medium and high concentrations. CaCl_2 application with high concentration ($40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) did not relieve all measured physiological indexes stressed by 3‰ sea salt. In conclusion, the application of low concentration of CaCl_2 ($10-20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) could reduce the damage of salt stress by reducing the decomposition of photosynthetic pigments, improving the photosynthetic rate, inhibiting the accumulation of reactive oxygen species, and maintaining the stability of plasma membrane, thus reduce salt damage rate and mortality of seedlings, and effectively alleviate the inhibition effect of salt stress on *C. hongkongensis* subsp. *tonkinensis*.

Key words: *Cornus hongkongensis* subsp. *tonkinensis*; salinity stress; CaCl_2 ; photosynthesis; stress resistance physiology

土壤盐渍化是目前全球都面临的一大问题^[1]。根据联合国粮农组织调查,目前全球已有超过 6% 的土地受到了盐碱化的影响^[2],并预测在 2050 年将有一半的耕地面临盐碱化。因此,未来农业有可能会转向边际性土地包括盐碱土^[3]。盐渍化土壤所带来的盐胁迫是限制作物生长及其产量的重要因素之一^[4]。盐胁迫对植物的不利影响主要包括渗透胁迫、氧化胁迫、离子毒害、代谢系统紊乱^[5]。胁迫的初期由于环境水势的变化限制了根系吸水的能力,影响植物的正常生长,而这一过程将会在短时间内完成^[6]。其次某些对植物有特定毒害作用的离子(Na^+ 、 Cl^-)经过一段时间的累积开始产生毒性,使细胞迅速脱水,限制酶的活性,影响养分的吸收^[7-8]。为保持水分的正常吸收,植物通过吸收积累无机盐(K^+ 等)与合成渗透调节物质(可溶性糖、氨基酸、脯氨酸、多元醇、甜菜碱等)来降低细胞内渗透势^[9]。盐分对植物种的不利影响导致了细胞结构(叶绿素体、过氧化物酶体)内活性氧(ROS)大量积累,过量的 ROS 引起脂质过氧化,其产物丙二醛(MDA)会使细胞膜功能逐渐丧失。此时植株可以通过调节自身的抗氧化酶系统,增强超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)等抗氧化酶的活性以维持植物正常代谢^[10];同时关闭气孔减少水分的流失。ROS 的积累和气孔的关闭会损伤叶绿体、降低叶绿素含量、抑制光合作用,反过来对细胞结构和代

谢产生负面影响,最终导致植株死亡^[11-12]。

钙是植物生长发育过程中一种不可或缺的元素,同时作为信号分子在细胞膜表面结合蛋白质维持其稳定性,并起到调节 pH 和减少溶质渗出的作用^[13-14]。有研究表明,适量的外源 Ca^{2+} 可以降低盐胁迫下 Na^+ 的吸收和转运,减少对细胞膜的不利影响;另一方面 Ca^{2+} 对 K^+ 的流失起到抑制作用,从而缓解植物矿质元素缺乏和维持离子平衡^[15-16]。在对甘薯(*Ipomoea batatas* Lam.)的研究中发现,适宜浓度外源 Ca^{2+} 能显著缓解盐胁迫对幼苗的毒害作用,并促进幼苗生根、降低叶片相对电导率和 MDA 含量影响、降低膜脂过氧化程度,同时可增强叶片光合作用和气孔蒸腾作用效率^[17]。也有学者发现联合施用 CaCl_2 和 GA_3 ,增加脯氨酸(Pro)、甜菜碱(GB)的含量可以更好地维持渗透平衡,也提高了 SOD、CAT 等抗氧化酶活性,其效果要优于单一处理^[12]。

山茱萸科(Cornaceae)四照花属(*Cornus*)树种大多为小乔木或灌木,别名狗木、山荔枝等,其叶片、苞片、果实都具有较好的观赏价值,是极具潜力的园艺观赏树种^[18]。在森林生态系统中,四照花属树种为各类动物提供了大量的养分,且在森林养分循环中也扮演了重要角色^[19]。四照花树种可分为北美类群和东亚类群^[20]。北美四照花虽在北美地区颇受青睐,但在中国长江中下游地区由于易感病(白粉

病、炭疽病)、不耐高温的原因无法展现其优势。相比之下,东亚四照花中的大部分树种,如东京四照花(*C. hongkongensis* subsp. *tonkinensis*)不仅存在丰富的变异,其抗性如耐盐性、耐高温高湿也已得到了验证^[21-22]。

由于中国江苏省的盐渍土壤类型主要为滨海盐渍土,因此,开发、引进和推广东亚四照花及其栽培种,可为中国东部盐碱地区的绿化美化增加候选树种。本研究将以变异较为丰富且抗逆性较好的东京四照花作为研究材料,对 3‰ 盐胁迫(基于前期研究得到的耐盐阈值^[23])下的幼苗施加 CaCl_2 以缓解盐胁迫,阐述外源钙添加对盐胁迫缓解的生理机制,为滨海地区四照花的推广栽培提供理论依据和技术支撑。

1 材料和方法

1.1 试验材料

植物材料为两年生的东京四照花播种容器苗,苗高 70~90 cm、地径 7~9 mm。为了更好地模拟滨海滩涂的盐胁迫,试验中盐处理所用粗盐为来自连云港的海盐(黄海),主要包括氯、钠、硫、镁、钙、钾、碳、溴、锶、硼和氟等元素。

1.2 试验设计

2019 年 12 月将无纺布袋中东京四照花幼苗移植在塑料盆(上径 21 cm、下径 15 cm、高 22 cm)中进行换盆缓苗。栽培基质由黄心土、有机肥、醋糟、草炭按照 3:1:3:3 比例混合而成, pH 为 7.09,全磷含量为 0.14 g/kg,全钾含量为 17.22 mg/g,全氮含量为 4.43 g/kg,全碳含量为 0.39 g/kg。

本研究通过将 CaCl_2 施用到栽培基质中以缓解幼苗盐胁迫。试验设置 1 个对照(Ca_0),1 个 3‰ 海盐处理($\text{ST}+\text{Ca}_0$)以及 4 个 CaCl_2 复合缓解处理(CaCl_2 设 10、20、30 和 40 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 4 个浓度梯度,分别依次表示为 $\text{ST}+\text{Ca}_{10}$ 、 $\text{ST}+\text{Ca}_{20}$ 、 $\text{ST}+\text{Ca}_{30}$ 和 $\text{ST}+\text{Ca}_{40}$),共计 6 个处理,每处理设 3 个重复,每重复 12 株苗。在盐处理中,处理浓度为基质干重的 3‰,为防止盐度过高给幼苗造成较大影响,分 3 次加入(每次间隔 3 d)500 mL 的盐溶液,按每次加入 1‰ 计算;在 CaCl_2 处理中,第一次盐处理时就将所需量的 CaCl_2 一次性直接溶于盐溶液中进行浇施。

2020 年 5 月待东京四照花幼苗新叶完全展开时,在设施条件下开展试验,试验持续时间共 28 d,从 5 月 28 日至 6 月 25 日。期间进行常规管理。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 盐害及存活率 每 7 d 对幼苗新梢、叶片进行盐害情况调查。幼苗盐害判定标准为老叶出现发黄和干枯现象;黄叶干枯面积越大则叶片损伤越严重。试验结束后至当年休眠前持续监测幼苗存活率。

1.3.2 生物量 试验结束时,每重复选取 2 株幼苗,全株收获后洗净,分别测定根、茎、叶鲜重;随后鲜样置于 105 °C 烘箱杀青 10 min,转至 80 °C 烘干至恒重并称取各器官干重,并计算各部分干重与根冠比。

1.3.3 气体交换参数和光合色素含量 处理第 28 天,每重复随机选定 5 株幼苗,测定中上部成熟叶片的气体交换参数(美国 LI-COR, CIRAS-2 型便携式光合仪),包括胞间二氧化碳浓度(C_i)、净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、和蒸腾速率(T_r)。同时,每重复随机选取 10 株幼苗,每株上采集中上部成熟叶片 2~3 片,去除中脉混合后采用乙醇提取法测定叶绿素 a(C_a)、叶绿素 b(C_b)、总类胡萝卜素(C_{x+c})和总叶绿素(C_t)等光合色素含量(mg/L)^[24]。

1.3.4 抗逆生理指标 取样方法与光合色素测定方法相同。可溶性糖(SS)含量采用蒽酮比色法测定;可溶性蛋白(SP)含量采用考马斯亮蓝 G-250 法测定;脯氨酸(Pro)含量采用磺基水杨酸法测定;丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定;超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑(NBT)法测定^[24]。

1.4 数据分析

使用 Microsoft Excel 2019 处理数据、绘制图表,并通过 SPSS 20.0 统计软件进行独立样本 t 检验、单因素方差分析和多重比较(Duncan's 新复极差法, $P < 0.05$),数据表示为均值±标准差。

2 结果与分析

2.1 各处理东京四照花幼苗损害情况和成活率

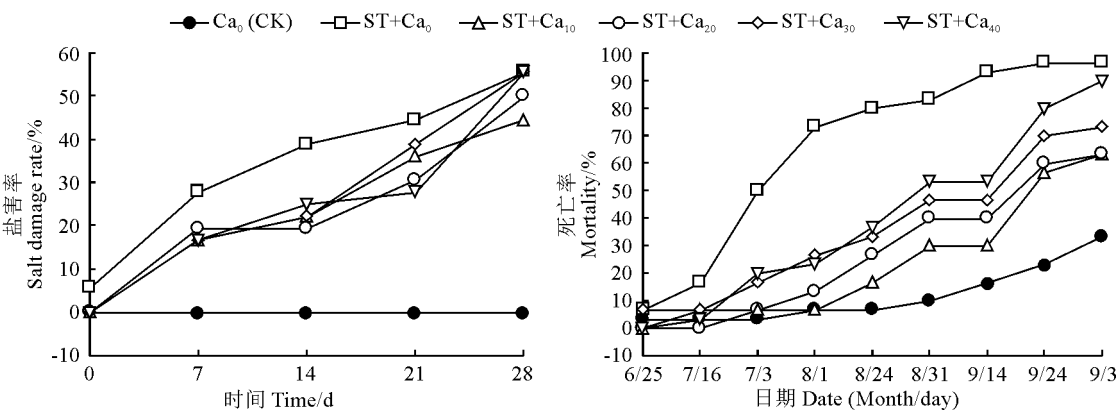
在处理期间,对照(Ca_0)幼苗一直未出现损害症状,而海盐处理($\text{ST}+\text{Ca}_0$)和复合缓解处理组的幼苗盐害率均随着胁迫时间的延长呈波动上升趋势(图 1)。其中, $\text{ST}+\text{Ca}_0$ 处理幼苗最先出现盐害症状,且随时间变化迅速加重,至 28 d 时盐害率达到最高(55.56%)。外源 CaCl_2 缓解盐害处理的情况因浓度而异,在处理的前 21 d,所有 CaCl_2 处理均显著降低了幼苗盐害率($P < 0.05$);至 28 d 时,仅 $\text{ST}+\text{Ca}_{10}$ 和 $\text{ST}+\text{Ca}_{20}$ 处理有一定的缓解效果,幼苗盐害率分别降至 44.44% 和 50.00%,而此时 $\text{ST}+\text{Ca}_{30}$ 、 $\text{ST}+\text{Ca}_{40}$ 处理的盐害率与 $\text{ST}+\text{Ca}_0$ 处理相同。

同时,在试验观测的 28 d 内,所有处理幼苗均未出现死亡。后续对幼苗存活率统计发现,到当年 9 月底, Ca_0 处理幼苗的死亡率达 33.33%, 主要是因为大棚内的高温高湿诱发病害(白粉病和炭疽病)所致;在复合处理组中, $ST+Ca_0$ 处理的幼苗死亡率高达 96.67%, 而外源 $CaCl_2$ 处理均降低了死亡率, 且低浓度的效果更好, $ST+Ca_{10}$ 和 $ST+Ca_{20}$ 处理死亡率均降至 63.33%, $ST+Ca_{30}$ 处理死亡率为 73.33%, $ST+Ca_{40}$ 处理仍高为 90%(图 1)。

综合比较 6 个处理的幼苗表现可以看出,盐胁迫导致东京四照花幼苗产生盐害症状,而添加 10 和 20 mmol/L $CaCl_2$ 处理可有效缓解盐害症状并且延长盐胁迫下幼苗的存活时间。

2.2 外源 $CaCl_2$ 对盐胁迫下东京四照花幼苗生物量的影响

表 1 显示,盐处理($ST+Ca_0$)显著降低了东京四照花幼苗根、叶以及总生物量积累($P < 0.05$), 其叶生物量降至 Ca_0 的 35.9%。外源 $CaCl_2$ 处理对盐胁迫缓解的情况因浓度和器官而异。与 $ST+Ca_0$ 处理相较,各浓度外源 $CaCl_2$ 处理根和茎生物量均无显著变化,而叶生物量均显著增加,总生物量也在 $ST+Ca_{10}$ 和 $ST+Ca_{20}$ 处理下显著增加,且器官生物量或者总生物量均以 $ST+Ca_{10}$ 或者 $ST+Ca_{20}$ 处理较高;同时, $ST+Ca_0$ 处理的根冠比显著高于 Ca_0 处理,也显著高于除 $ST+Ca_{40}$ 以外的处理(表 1)。可见,施用 $CaCl_2$ 均有效提升了盐胁迫下东



Ca_0 为对照处理,ST 为 3‰海盐处理, Ca_{10} 、 Ca_{20} 、 Ca_{30} 和 Ca_{40} 分别表示 10、20、30 和 40 mmol/L $CaCl_2$ 处理;下同

图 1 $CaCl_2$ 对盐胁迫下东京四照花幼苗盐害率和死亡率的影响

Ca_0 is control, ST is the treatment added 3‰ sea salt, and Ca_{10} , Ca_{20} , Ca_{30} , Ca_{40} indicate that the treatment added 10, 20, 30 and 40 mmol/L $CaCl_2$, respectively; The same as below

Fig. 1 Effect of $CaCl_2$ application on salt damage rate and mortality rate of salt-stressed seedlings of *C. hongkongensis* subsp. *tonkinensis*

表 1 $CaCl_2$ 处理对盐胁迫下东京四照花生生物量和根冠比的影响

Table 1 Effects of $CaCl_2$ application on the salt-stressed seedling growth of *C. hongkongensis* subsp. *tonkinensis*

处理 Treatment	生物量 Biomass/g				根冠比 Root/Shoot
	根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	总生物量 Total biomass	
Ca_0 (CK)	7.26±1.70a	12.17±1.59a	17.57±0.91a	37.03±3.57a	0.29±0.04c
$ST+Ca_0$	4.86±0.66b	9.45±0.64ab	6.30±0.46d	20.61±0.65c	0.52±0.07a
$ST+Ca_{10}$	5.58±0.38ab	11.38±1.03ab	12.17±2.59bc	28.56±1.93b	0.33±0.07bc
$ST+Ca_{20}$	5.25±0.60b	11.19±0.65ab	13.80±1.55ab	30.24±2.26b	0.28±0.04c
$ST+Ca_{30}$	4.49±0.20b	8.34±0.82b	9.49±0.93cd	22.32±1.09c	0.35±0.01bc
$ST+Ca_{40}$	4.59±0.38b	10.82±1.31ab	10.61±1.09bc	24.98±0.68bc	0.45±0.04ab

注:同列内不同小写字母表示处理间在 0.05 水平差异显著($P < 0.05$)。下同
Note: The different lowercase letters in each column indicate significant difference between treatments at 0.05 level ($P < 0.05$). The same as below

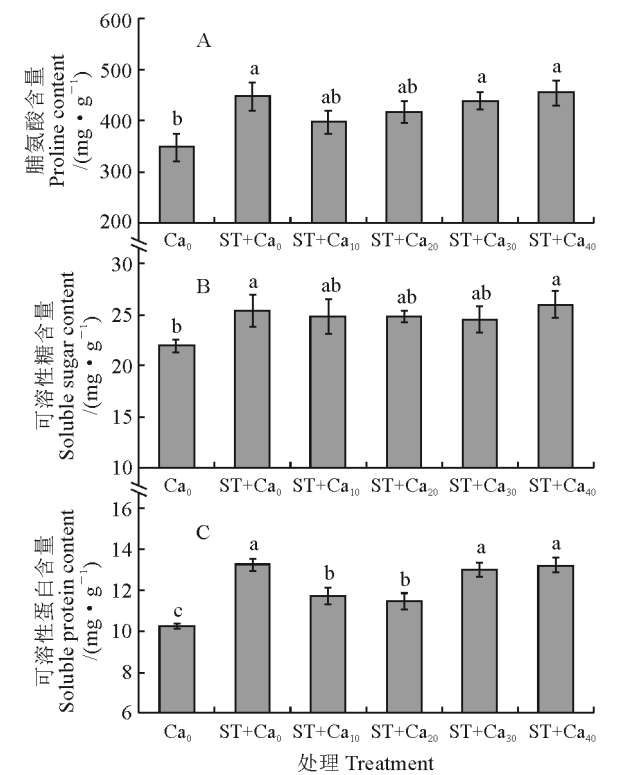
京四照花幼苗叶和总生物量积累,却降低了其根冠比,并以 $\text{ST}+\text{Ca}_{10}$ 和 $\text{ST}+\text{Ca}_{20}$ 处理缓解效果最好,但未能恢复达到 Ca_0 水平。总体上来看,施用外源 CaCl_2 对盐胁迫下幼苗生物量的影响结果与其对盐害率和死亡率的影响效果较为一致,即低浓度 CaCl_2 (10~20 mmol/L) 的缓解效果要优于高浓度 (30~40 mmol/L) 的缓解效果。

2.3 外源 CaCl_2 对盐胁迫下东京四照花幼苗叶片抗逆生理指标的影响

2.3.1 渗透调节物质含量 东京四照花幼苗叶内的脯氨酸(Pro)和可溶性糖(SS)含量积累在复合处理组内未有显著变化, $\text{ST}+\text{Ca}_0$ 处理均显著高于 Ca_0 处理(图 2, A、B)。 $\text{ST}+\text{Ca}_0$ 处理显著提高了幼苗叶内 SP 的含量,相比 Ca_0 处理显著增加 30.86%;在复合处理组内,盐胁迫下幼苗叶片 SP 含量随着外源 CaCl_2 浓度的升高而先降后升,并在 $\text{ST}+\text{Ca}_{10}$ 和 $\text{ST}+\text{Ca}_{20}$ 处理下显著低于 $\text{ST}+\text{Ca}_0$ 处理,其中 $\text{ST}+\text{Ca}_{20}$ 处理的降幅最大(13.61%),而 $\text{ST}+\text{Ca}_{30}$ 和 $\text{ST}+\text{Ca}_{40}$ 处理的 SP 又升高至 $\text{ST}+\text{Ca}_0$ 水平(图 2, C)。可见,盐胁迫均显著提高了东京四照花幼苗叶片 3 种渗透调节物质含量;但施加外源 CaCl_2 仅显著影响了其叶片可溶性蛋白含量,且其含量仅在低 CaCl_2 浓度条件下($\text{ST}+\text{Ca}_{10}$ 、 $\text{ST}+\text{Ca}_{20}$)显著降低并趋于 Ca_0 处理。由此推测,东京四照花幼苗在遭受盐胁迫过程中可溶性蛋白在渗透调节方面发挥着更为显著的作用。

2.3.2 SOD 活性和 MDA 含量 图 3 显示,东京四照花幼苗叶片的 SOD 活性以及 MDA 含量在盐处理($\text{ST}+\text{Ca}_0$)下均显著提高;而外源 CaCl_2 处理对盐胁迫下幼苗叶片 MDA 和 SOD 含量的影响因浓度而异,相较于 $\text{ST}+\text{Ca}_0$ 处理, $\text{ST}+\text{Ca}_{10}$ 、 $\text{ST}+\text{Ca}_{20}$ 和 $\text{ST}+\text{Ca}_{30}$ 处理的 MDA 含量和 SOD 活性均显著下降($P < 0.05$),且趋近于对照处理(Ca_0)水平,并

以 $\text{ST}+\text{Ca}_{20}$ 处理的 MDA 含量和 $\text{ST}+\text{Ca}_{10}$ 处理的 SOD 活性下降幅度最大,比 $\text{ST}+\text{Ca}_0$ 处理分别降低了 30.49% 和 29.6%;而高浓度 CaCl_2 处理($\text{ST}+\text{Ca}_{40}$)对 MDA 和 SOD 值的影响不显著(图 3)。由此可见,施加中低浓度 CaCl_2 (10~30 mmol/L) 可



同组内不同小写字母表示处理间在 0.05 水平差异显著 ($P < 0.05$)。下同

图 2 CaCl_2 处理对盐胁迫下东京四照花幼苗渗透调节物质含量的影响

The different lowercase letters in the same group indicate significant difference between treatments at 0.05 level ($P < 0.05$). The same as below

Fig. 2 Effects of CaCl_2 application on osmotic regulator contents in the salt-stressed seedling of *C. hongkongensis* subsp. *tonkinensis*

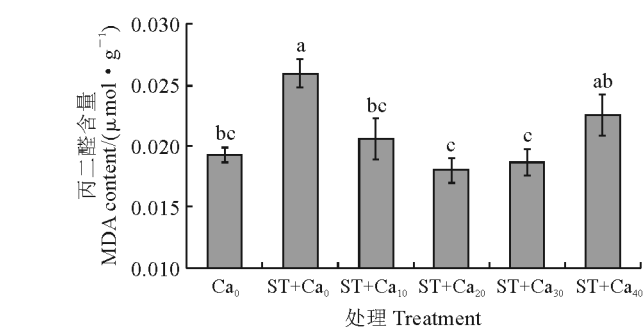


图 3 CaCl_2 处理对盐胁迫下东京四照花幼苗叶片 MDA 含量与 SOD 活性的影响

Fig. 3 Effects of CaCl_2 application on MDA content and SOD activity in the salt-stressed seedling of *C. hongkongensis* subsp. *tonkinensis*

以有效缓解盐胁迫条件下东京四照花幼苗受到的氧化胁迫伤害,维持细胞膜结构的稳定性,从而缓解盐胁迫对幼苗生长的抑制。

2.4 外源 CaCl₂ 对盐胁迫下东京四照花幼苗叶片光合指标的影响

2.4.1 光合色素含量 由图 4 可知,相比于 Ca₀ 处理,盐胁迫(ST+Ca₀)显著降低了东京四照花幼苗叶片的光合色素含量($P < 0.05$)。外源 CaCl₂ 处理对盐胁迫下幼苗的缓解情况因浓度而异。除 ST+Ca₄₀ 处理外,外源 CaCl₂ 各处理均能提高幼苗叶片光合色素含量且始终高于 ST+Ca₀ 处理;其中 ST+Ca₃₀ 处理的叶绿素 b 和总叶绿素含量均显著高于 ST+Ca₀ 处理($P < 0.05$),其他处理的光合色素含量与 ST+Ca₀ 差异不显著(图 4)。综合光合色素的变化情况可知,中低浓度 CaCl₂ (10~30 mmol/L)处理均一定程度上促进了盐胁迫下东京四照花幼苗的光合色素的合成,且对叶绿素 b 含量和总叶绿素含量促进效果更明显,并以 30 mmol/L CaCl₂ 处理效果最佳,各色素含量均恢复至对照水平。

2.4.2 光合气体交换参数 图 5 显示,盐处理(ST+Ca₀)显著降低了东京四照花幼苗叶片 C_i 、 P_n 、 G_s 和 T_r ($P < 0.05$),分别比 Ca₀ 降低 16.13%、77.55%、45.45%和 42.25%。外源 CaCl₂ 处理对缓解盐胁迫的情况也因浓度而异,各 CaCl₂ 浓度处理均有效提

高了盐胁迫幼苗叶片的 C_i 、 P_n 、 G_s 和 T_r 。相比较而言,ST+Ca₁₀ 与 ST+Ca₂₀ 处理的缓解效果更好,而 ST+Ca₃₀ 和 ST+Ca₄₀ 处理的各光合指标均比前两者有不同程度的下降(图 5)。可见,盐胁迫显著抑制了东京四照花幼苗的光合作用,并以净光合速率的降幅最大;施加外源 CaCl₂ 可以有效缓解盐胁迫所引起的光合指标下降,而以低浓度处理(10~20 mmol/L)效果较好,使盐胁迫幼苗除净光合速率以外的指标大多趋于对照水平。

3 讨论

盐胁迫作为植物最常遭遇的逆境之一,给植物的生长发育带来很多不利影响^[25]。而 Ca²⁺ 作为植物生长的必要元素,同时也是细胞膜重要的稳定剂。Ca²⁺ 不仅是细胞膜和细胞壁的组成部分,也担任着偶联胞外信号和胞内信号传递的第二信使,从而影响离子转移、抗氧化酶活性等^[15-16]。钙已被充分证明可以维持质膜稳定性和钙调节系统的运行,提高植物的多种抗性与耐性。高浓度的钙也会对植物本身产生毒害作用,适宜的外源钙离子可以缓解植物的盐胁迫^[26-28]。

植物在逆境环境中会改变其外部形态来反映受伤害程度,而盐害症状可作为衡量耐盐性的常用辅助手段。东京四照花幼苗在 3‰盐胁迫下,出现发黄、

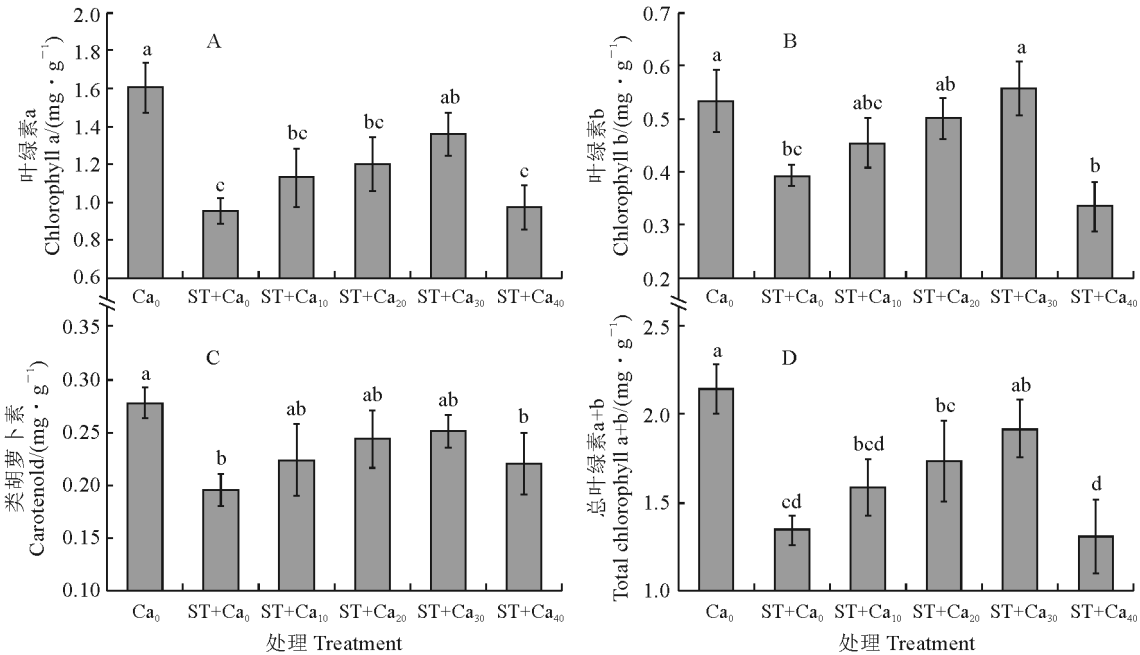


图 4 CaCl₂ 对盐胁迫下东京四照花幼苗叶片光合色素含量的影响

Fig. 4 Effects of CaCl₂ application on photosynthetic pigment contents in the salt-stressed seedling of *C. hongkongensis* subsp. *tonkinensis*

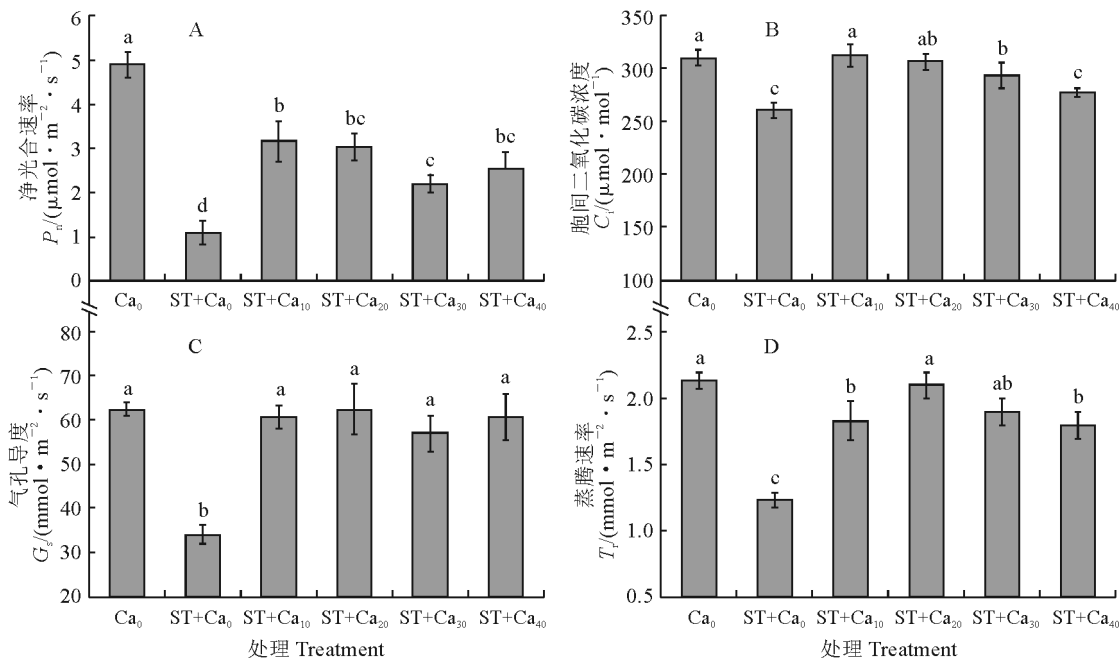


图5 CaCl_2 对盐胁迫下东京四照花幼苗叶片光合气体交换参数的影响

Fig. 5 Effects of CaCl_2 application on photosynthetic gas exchange parameters in the salt-stressed seedling of *C. hongkongensis* subsp. *tonkinensis*

干枯和块状发紫等盐害症状,且大量落叶。通过外施 CaCl_2 缓解盐胁迫症状,发现相比于 ST 处理,ST + Ca_{10} 和 ST + Ca_{20} 处理的盐害症状有所缓解(图 1),幼苗存活时间延长、存活率较高(图 2);而较高浓度的 CaCl_2 处理缓解盐胁迫的效果则略逊一筹。李婧男等^[28]研究也发现,低浓度的 CaCl_2 (5~10 mmol/L)处理可以促进盐胁迫下沙东青(*Ammopiptanthus mongolicus*)幼苗的生长并降低其死亡率。

施用 CaCl_2 可缓解盐胁迫,也体现在植物的生长和生物量积累的变化。本研究观察到盐胁迫下的东京四照花幼苗更倾向增加根系生物量来加强水分吸收,从而维持植物在盐胁迫下的正常生长。这与弗吉尼亚栎(*Quercus virginiana*)盐胁迫下其生物量分配模式相同^[29]。此外,我们发现低浓度下 CaCl_2 (10~20 mmol/L)显著提高了盐胁迫幼苗叶及整株生物量。徐芬芬等^[29]研究也报道了类似的结果,即喷施 10 mmol/L 的 CaCl_2 对盐胁迫下小白菜(*Brassica campestris* ssp. *chinensis* L.)的生长有促进作用。

盐胁迫下增加渗透调节物质(可溶性糖 SS、可溶性蛋白 SP、脯氨酸 Pro 等)可保护生物膜以减轻盐害^[25,30]。有研究表明,适当的外源 Ca^{2+} 可以促进甘薯(*Ipomoea batatas* Lam.)SS 和 Pro 的积累,增强细胞的渗透调节能力^[17]。不同的是,我们研究发现添加外源 CaCl_2 对盐胁迫幼苗 SS 和 Pro 的影响不大,但可有效调节其 SP 含量,尤其在低浓度处理

(ST + Ca_{10} 和 ST + Ca_{20})下效果更为显著。说明在逆境条件下,东京四照花更倾向通过 SP 的含量变化来进行渗透调节从而达到减缓胁迫的效果。

膜透性是衡量细胞完整性和稳定性的一个重要指标^[26,31]。膜脂过氧化会对细胞膜造成损伤^[32],而 MDA 是膜脂氧化的产物^[33-34]。陈全战等^[35]对杂交油菜(*Helianthus annuus* L.)的研究发现,10 mmol/L CaCl_2 可以显著提高 SOD、POD、CAT 的活性,降低 MDA 的含量。本研究发现,盐胁迫显著提高了东京四照花 MDA 的含量和 SOD 的活性,而中低浓度 CaCl_2 (10~30 mmol/L)缓解处理均有效降低了 2 个指标的含量。推测认为, Ca^{2+} 与受体结合后,起到了抑制膜脂过氧化的作用,加强了细胞膜的稳定性。一般认为,胁迫初期植物体内的 SOD 活性表现为先升高后下降的趋势^[36];经中低浓度的 CaCl_2 缓解处理后,东京四照花 SOD 活性均明显下降。说明外源钙起到了缓解盐胁迫的作用,且由于缓解时间延长植株体内活性氧的产生和清除已处于平衡状态。

光合作用是植物进行能量转化以及生长的基础。而光合色素是植物进行光合作用的关键因素,其含量可以作为评价植物光合能力的指标^[36]。盐胁迫会使叶绿素的含量降低^[24]。在胁迫初期植物也会通过关闭气孔来降低 P_n 和 G_s ,以防止水分过度流失^[28]。施用适宜浓度的外源 CaCl_2 ,可以维持

光合色素含量、提高光合效率从而保证幼苗的正常生长^[37]。施用低浓度 CaCl_2 不仅增加胁迫幼苗光合色素含量,其中 $\text{ST}+\text{Ca}_{30}$ 处理的效果更为显著;同样也提升了 P_n 、 G_s 、 C_i 和 E ,其中 $\text{ST}+\text{Ca}_{10}$ 和 $\text{ST}+\text{Ca}_{20}$ 的效果更为显著。黄璐瑶等^[38]也报道了相似的研究成果,发现外源钙处理可以提高盐胁迫下忍冬(*Lonicera japonica* Thunb.)气体交换参数和光合色素含量。此外,盐胁迫下东京四照花幼苗的 G_s 明显降低,而施加 CaCl_2 则有效提高 G_s ,说明盐胁迫下东京四照花幼苗光合效率降低的主要因素为气孔限制。

参考文献:

[1] KOLOMEICHUK L V, EFIMOVA M V, Zlobin I E. 24-Epi-brassinolide alleviates the toxic effects of NaCl on photosynthetic processes in potato plants[J]. *Photosynth Research*, 2020, **146**(1): 151-163.

[2] KHAN M, IQBAL N, MASOOD A. Variation in salt tolerance of wheat cultivars: role of glycinebetaine and ethylene[J]. *Pedosphere*, 2012, **22**(6): 746-754.

[3] SHRIVASTAVA P, KUMAR R. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2015, **22**(2): 123-131.

[4] PARIHAR P, SINGH S, SINGH R, et al. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: A review[J]. *Environmental Science Pollution Research*, 2015, **22**(6): 4 056-4 075.

[5] NAZAR R, IQBAL N, SYEED S, et al. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mungbean cultivars[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2011, **168**(8): 807-815.

[6] 徐 猛, 马巧荣, 张继涛, 等. 盐胁迫下不同基因型冬小麦渗透及离子的毒害效应[J]. *生态学报*, 2011, **31**(3): 784-792.

XU M, MA Q R, ZHANG J T, et al. Osmotic and ionic stress effects of high NaCl concentration on seedlings of four wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, **31**(3): 784-792.

[7] 包 颖, 魏琳燕, 陈 超. 水杨酸和茉莉酸甲酯对盐胁迫下月季品种月月粉生理特性的影响[J]. *云南农业大学学报(自然科学)*, 2020, **35**(6): 1 040-1 045.

BAO Y, WEI L Y, CHEN C. Effects of exogenous salicylic acid and methyl jasmonate on the physiological characteristics of *Rosa chinensis* 'old blush' under salt stress[J]. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2020, **35**(6): 1 040-1 045.

[8] HOSSEINI S J, TAHMASEBI-SARVESTANI Z, PIRDASHTI H, et al. Investigation of yield, phytochemical composition, and photosynthetic pigments in different mint ecotypes under salinity stress[J]. *Food Science & Nutrition*, 2021, **9**(5): 2 620-2 643.

综上所述,当施用 CaCl_2 进行盐胁迫缓解处理时,低浓度 CaCl_2 处理($\text{ST}+\text{Ca}_{10}$ 和 $\text{ST}+\text{Ca}_{20}$)可更有效地调节生化指标、促进光合能力、提高生物量积累,从而缓解幼苗的盐害症状,延长幼苗的生存时间,降低幼苗的死亡率;而高浓度 CaCl_2 处理($\text{ST}+\text{Ca}_{40}$)对幼苗的生长有一定的抑制作用。由此可见,当利用外源 CaCl_2 缓解胁迫时需要选择适宜的浓度。然而不同植物抵抗盐胁迫的机制并不完全一致,同一植物不同发育时期的耐盐能力也不同。有关 Ca^{2+} 如何调控东京四照花的耐盐机理还需要进一步深入。

[9] JITHESH M N, PRASHANTH S R, SIVAPRAKASH K R, et al. Antioxidative response mechanisms in halophytes: Their role in stress defence [J]. *Journal of Genetics*, 2006, **85**(3): 237-254.

[10] BARTELS D, SUNKAR R. Drought and salt tolerance in plants [J]. *Critical Reviews in Plant Science*, 2005, **24**(1): 23-58.

[11] 徐臣善. 钙对盐胁迫下小金海棠幼苗生物量及抗氧化系统的影响[J]. *植物生理学报*, 2014, **50**(6): 817-822.

XU C S. Effects of calcium on biomass and antioxidant systems in seedlings of *Malus xiaojinensis* under salt stress[J]. *Plant Physiology Journal*, 2014, **50**(6): 817-822.

[12] WANG W B, KIM Y H, LEE H S, et al. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2009, **47**(7): 570-577.

[13] 王晓丽, 鲁晓燕, 涂文文, 等. 外源 CaCl_2 对 NaCl 胁迫下酸枣幼苗氮代谢的影响[J]. *西北植物学报*, 2018, **38**(9): 1 683-1 691.

WANG X L, LU X Y, TU W W, et al. Effect of exogenous CaCl_2 on the nitrogen metabolism of sour jujube seedlings under NaCl stress [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2018, **38**(9): 1 683-1 691.

[14] KHAN M N, SIDDIQUI M H, MOHAMMAD F, et al. Calcium chloride and gibberellic acid protect linseed (*Linum usitatissimum* L.) from NaCl stress by inducing antioxidative defence system and osmoprotectant accumulation[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2010, **32**(1): 121-132.

[15] 闫 振, 李 进, 阿丽努尔·阿卜来提, 等. 外源钙对盐胁迫下单叶蔷薇种子萌发和幼苗生长的影响[J]. *草地学报*, 2022, **30**(5): 1 185-1 193.

YAN Z, LI J, ALINUER A, et al. Effects of exogenous calcium on seed germination and seedling growth of *Hulthemia berberifolia* under salt stress[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2022, **30**(5): 1 185-1 193.

[16] WU G Q, WANG S M. Calcium regulates K^+/Na^+ homeostasis in rice (*Oryza sativa* L.) under saline conditions[J]. *Plant, Soil and Environment*, 2012, **58**(3): 121-127.

[17] 王 刚, 肖 强, 衣艳君, 等. 甘薯幼苗对 NaCl 胁迫的生理响应及外源钙的缓解效应[J]. *植物生理学报*, 2014, **50**(3):

- 338-346.
- WANG G, XIAO Q, YI Y J, *et al.* Alleviatory function of exogenous calcium in responses of sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) seedlings to NaCl stress[J]. *Plant Physiology Journal*, 2014, **50**(3): 338-346.
- [18] FU X X, LIU H N, ZHOU X L, *et al.* Seed dormancy mechanism and dormancy breaking techniques for *Cornus kousa* var. *chinensis* [J]. *Seed Science and Technology*, 2013, **41**(3): 458-463.
- [19] 洪香香, 徐 杰, 刘国华. 观赏型四照花种质资源及其开发利用[J]. 林业科技开发, 2015, **29**(3): 1-6.
- FU X X, XU J, LIU G H. Germplasm resources of ornamental tetrapetalum nitidum and its development and utilization[J]. *China Forestry Science and Technology*, 2015, **29**(3): 1-6.
- [20] 韩维栋. 四照花类群种质资源及其开发利用[J]. 中国野生植物资源, 1993, **13**(1): 37-40.
- HAN W D. Germplasm resources and development and utilization of four-flowered groups[J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 1993, **12**(1): 37-40.
- [21] LU Q, YANG L, WANG H, *et al.* Calcium ion richness in *Cornus hongkongensis* subsp. *elegans* (W. P. Fang et Y. T. hsieh) Q. Y. Xiang could enhance its salinity tolerance[J]. *Forests*, 2021, **12**(11): 1 522.
- [22] LU Q, XU J, FU X X, *et al.* Physiological and growth responses of two dogwoods to short-term drought stress and re-watering[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, **40**(2): 172-177.
- [23] YUAN J Q, SUN D W, LU Q, *et al.* Responses of physiology, photosynthesis, and related genes to saline stress in *Cornus hongkongensis* subsp. *tonkinensis* (W. P. Fang) Q. Y. Xiang [J]. *Plants*(Basel, Switzerland), 2022, **11**(7): 940.
- [24] 王学奎, 黄见良, 等. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2015.
- [25] 赵 野, 刘 威, 王 贺, 等. 外源 CaCl_2 对盐胁迫下西伯利亚白刺活性氧代谢的影响[J]. 植物生理学报, 2021, **57**(5): 1 105-1 112.
- ZHAO Y, LIU W, WANG H, *et al.* Effects of exogenous CaCl_2 on reactive oxygen species metabolism in *Nitraria sibirica* under NaCl stress [J]. *Plant Physiology Journal*, 2021, **57**(5): 1 105-1 112.
- [26] 周双云, 蒋 晶, 高龙燕, 等. 不同浓度 CaCl_2 对盐胁迫下巴西蕉幼苗生理的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2014, **20**(3): 449-454.
- ZHOU S Y, JIANG J, GAO L Y, *et al.* Effects of CaCl_2 concentration on physiology of Brazil banana seedling under NaCl stress [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2014, **20**(3): 449-454.
- [27] MINORSKY P V. An heuristic hypothesis of chilling injury in plants: A role for calcium as the primary physiological transducer of injury [J]. *Plant, Cell and Environment*, 1985, **8**(2): 75-94.
- [28] 李婧男, 刘 强, 李 升. 生长素和氯化钙对盐胁迫下沙冬青幼苗的缓解作用[J]. 植物研究, 2010, **30**(1): 27-31.
- LI J N, LIU Q, LI S. Mitigative effect of IBA and CaCl_2 on under salt stress *Ammopiptanthus mongolicus* seedlings[J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2010, **30**(1): 27-31.
- [29] 徐芬芬. CaCl_2 对盐胁迫下小白菜生长和相关生理特性的影响[J]. 热带作物学报, 2012, **33**(4): 642-645.
- XU F F. Effects of CaCl_2 on the growth and the mechanism in *Brassica campestris* ssp. *chinensis* L. under the salt stress [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2012, **33**(4): 642-645.
- [30] 孙海菁, 王树凤, 陈益泰. 盐胁迫对 6 个树种的生长及生理指标的影响[J]. 林业科学研究, 2009, **22**(3): 315-324.
- SUN H J, WANG S F, CHEN Y T. Effects of salt stress on growth and physiological index of 6 tree species[J]. *Forest Research*, 2009, **22**(3): 315-324.
- [31] 朱金方, 刘京涛, 陆兆华, 等. 盐胁迫对中国柃柳幼苗生理特性的影响[J]. 生态学报, 2015, **35**(15): 5 140-5 146.
- ZHU J F, LIU J T, LU Z H, *et al.* Effects of salt stress on physiological characteristics of *Tamarix chinensis* Lour. seedlings [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, **35**(15): 5 140-5 146.
- [32] AMITRANO C, ROUPHAEL Y, PANNICO A, *et al.* Reducing the evaporative demand improves photosynthesis and water use efficiency of indoor cultivated lettuce[J]. *Agronomy*, 2021, **11**(7): 1 396.
- [33] GIANNOPOLITIS C N, RIES S K. Superoxide dismutases: I. occurrence in higher plants [J]. *Plant Physiology*, 1977, **59**(2): 309-314.
- [34] GIRIJA C, SMITH B N, SWAMY P M. Interactive effects of sodium chloride and calcium chloride on the accumulation of proline and glycinebetaine in peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2002, **47**(1): 1-10.
- [35] 陈全战, 张边江, 周 峰, 等. 钙对盐胁迫下油用向日葵幼苗光合生理特性的影响[J]. 华北农学报, 2009, **24**(2): 149-152.
- CHEN Q Z, ZHANG B J, ZHOU F, *et al.* Effects of supplemental calcium on photosynthetic characteristics of oil sunflower seedlings [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2009, **24**(2): 149-152.
- [36] WEI X, SU X, CAO P, *et al.* Structure of spinach photosystem II-LHCII super complex at 3.2 Å resolution[J]. *Nature*, 2016, **534**(7 605): 69-74.
- [37] 朱晓军, 杨劲松, 梁永超, 等. 盐胁迫下钙对水稻幼苗光合作用及相关生理特性的影响[J]. 中国农业科学, 2004, **37**(10): 1 497-1 503.
- ZHU X J, YANG J S, LIANG Y C, *et al.* Effects of exogenous calcium on photosynthesis and its related physiological characteristics of rice seedlings under salt stress[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2004, **37**(10): 1 497-1 503.
- [38] 黄璐瑶, 李壮壮, 段童瑶, 等. 盐胁迫下外源钙对忍冬光合系统的调控[J]. 中国中药杂志, 2019, **44**(8): 1 531-1 536.
- HUANG L Y, LI Z Z, DUAN T Y, *et al.* Regulation of exogenous calcium on photosynthetic system of honeysuckle under salt stress[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2019, **44**(8): 1 531-1 536.