

盐胁迫对 6 个树种的生长及生理指标的影响

孙海菁, 王树凤, 陈益泰

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400)

摘要: 采用水培方式对 6 个树种盐胁迫后的生长、生理指标进行研究, 结果表明: 盐胁迫对不同树种苗高净生长量和生物量、根、茎、叶干质量抑制明显, 各树种根冠比随胁迫浓度的增加而上升。相对电导率、脯氨酸含量、超氧化物歧化酶活性、可溶性蛋白含量在浓度梯度上差异显著, 并随 NaCl 浓度的增加和处理时间的延长表现出逐渐增加的趋势; 在中低盐度胁迫下增加趋势不明显, 在高盐度胁迫下迅速上升; 各指标在胁迫浓度和胁迫时间上存在交互作用, 不同树种对盐胁迫的响应浓度和时间有差异。利用主成分分析法, 筛选出苗高增长量、脯氨酸含量、超氧化物歧化酶活性、叶片盐害指数、生物量、相对电导率 6 个指标作为树种耐盐性评价的指标, 采用生长、生理指标与对照的比值, 用坐标综合评定法评定的树种耐盐性依次为: 旱柳、弗栎 > 美国皂荚、洋白蜡、蜡杨梅 > 美国悬铃木。

关键词: 盐胁迫; 生理指标; 综合评价

中图分类号: S722.3⁺6

文献标识码: A

Effects of Salt Stress on Growth and Physiological Index of 6 Tree Species

SUN Haijing, WANG Shufeng, CHEN Yitai

(Research Institute of Subtropical Forestry, CAF, Fuyang 311400 Zhejiang China)

Abstract The dynamic changes of growth and physiological characteristics of six tree species were investigated under 0, 2, 4, 0 and 6 0 g · L⁻¹ NaCl stress in hydroponics culture using Hoagland solution, the results showed that seedling height and root collar diameter growth rate, biomass, dry weight of root, shoot and leaves were inhibited apparently with the increasing NaCl concentration in all species. The difference for relative penetrability, Proline content, SOD activity and soluble protein in leaves were significant under NaCl concentration. It increased with NaCl concentration during the whole period in most species. However, they were elevated obviously with higher NaCl concentration, while not with lower NaCl concentration. NaCl concentration × stress times effect was also significant in most physiological characteristics, which cause the differences among the species in response time and NaCl concentration. Through principal component analysis (PCA), the factors such as height growth rate, Proline content, SOD activity, salt ham index of leaves, biomass, relative penetrability could be used for selection of tree species under salt stress. Based on the analysis of growth rate and physiological indexes, tree species were arranged in ordering according to their tolerance as *Salix matsudana*, *Quercus virginiana*, *Gleditsia triacanthos*, *Fraxinus pennsylvanica*, *Myrica cerifera* and *P. latanus occidentalis*.

Key words salt stress, physiological index, comprehensive appraisal

收稿日期: 2008-03-03

基金项目: 浙江省重大科技攻关项目“环杭州湾林业景观生态体系构建技术与示范”(2004C12030)、横向合作项目“上海市耐盐碱绿化树种筛选”(沪农科攻字(2003)第 16-1号)部分研究内容

作者简介: 孙海菁(1970-), 男, 江苏阜宁人, 助理研究员, 博士, 从事树木抗逆育种研究。

世界上存在着占陆地面积 1/10 的盐碱土。近年来,全球面临的人口-环境-资源问题更加严重,土地沙漠化、水土流失和盐碱化呈逐步加重的趋势。据估计,全球盐碱地每年以 $1 \times 10^6 \sim 1.5 \times 10^6 \text{ km}^2$ 的速度增加。开发和利用盐碱地资源是进一步挖掘农业发展潜力、解决人口和环境压力的重要出路,而选用和推广耐盐植物是改良和利用大面积盐碱土壤最经济、快捷的措施之一,因此,研究植物的耐盐性及其机理具有重要的理论和现实意义。

植物受到盐胁迫后会引发一系列生长和生理生化变化,许多研究指出,作为评价植物耐盐性的重要生理指标,超氧化物歧化酶(SOD)活性、可溶性蛋白含量、脯氨酸(Pro)含量是影响植物耐盐能力的重要因素,然而对于不同的树种来说,盐胁迫后的响应并不一致^[1-3]。本试验采用水培方式,以弗栎(*Quercus virg in iana* Mill)、美国皂荚(*Gleditsia triacanthos* L)、蜡杨梅(*Myrica cerifera* L)、美国悬铃木(*Platanus occidentalis* Linn)、洋白蜡(*Fraxinus pennsylvanica* Marsh)和乡土树种旱柳(*Salix matsudana* Koidz)为试材,通过研究盐胁迫对树种生物量、叶片细胞膜透性、脯氨酸含量、可溶性蛋白含量、超氧化物歧化酶活性的影响,探讨盐分不同胁迫时期对树种生理生化过程的影响及不同树种对盐胁迫的响应差异,以正确评价树种资源的耐盐性。

1 材料与方 法

1.1 材料来源

弗栎、美国皂荚、蜡杨梅、美国悬铃木、洋白蜡原产于美国,是美国沿海地区的重要树种,近年来在浙江慈溪、上虞以及上海等地进行了广泛试种及推广,表现出较强的适应能力。旱柳在我国沿海地区自然分布较广,是东南沿海滩涂自然更新的树种。

1.2 试验设计

试验地点在浙江富阳中国林科院亚林所实验大棚,试验时间为 2006 年 6-9 月。采用均匀一致的 1 年生容器苗,苗高 30~40 cm,基径 0.4~0.5 cm,进行容器箱水培试验。苗木从营养杯中取出洗净后,放入 1/2 Hoagland 培养液中先进行预培养,培养期间用电动气泵 24 h 持续通气,保证供氧充足,苗木生长正常后进行盐胁迫处理。每个容器箱采用同种盐浓度处理,NaCl 浓度分别为 0 0.2 0.4 0.6 $0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,各代表对照(ck)、低盐、中盐、高盐 4 个处理,每 7 d 更换 1 次营养液和盐处理液,维持营养液浓度。

容器箱盖按 10 cm × 8 cm 打孔,共 6 行,每行 4 孔,每个容器中按行随机放置 6 个树种,每个树种 4 株苗。4 个盐处理各重复 3 次,即 3 个容器,合计容器 12 个。每个树种种用苗 48 株,合计 288 株。

1.3 试验方法

从 2006 年 8 月初到 8 月下旬,每隔 7 d 观测容器苗的生长和受害状况,定期采集相同部位叶片,在盐胁迫处理 7 14 21 d 测定叶片细胞膜透性、超氧化物歧化酶(SOD)和可溶性蛋白、脯氨酸(Pro)含量等,部分指标测定到 28 d。实验 10 周后,于 10 月中旬收获,测定各树种生物量,根、叶、茎的鲜质量、干质量,计算根冠比。采用 DDS-307 电导率仪测定叶片细胞膜的相对透性。脯氨酸含量采用酸性茚三酮比色法,超氧化物歧化酶活性采用氮蓝四唑光还原法,可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝法^[4]。

1.4 统计方法

用 SAS 统计软件进行单因素和双因素方差分析,检验不同盐浓度对树种生长及浓度和胁迫时间对树种生理指标的影响。选择与盐害密切相关的叶片盐害指数、苗高净生长量、地径净生长量、苗木生物量、相对电导率、脯氨酸(Pro)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、可溶性蛋白含量 8 个指标,采用简单相关系数估算生理、生长指标的相关系数。

2 结果与分析

2.1 树种叶片受害情况

植物受到盐胁迫后,叶片表现出直观的盐害症状^[5]。表 1 表明:树种叶片盐害在胁迫浓度和持续时间上,响应的速率和受害症状不一。盐胁迫 21 d $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 浓度下,除美国悬铃木外,各树种叶片伤害不大; $4.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 浓度下,弗栎、美国皂荚、蜡杨梅、旱柳叶片盐害指数在 16.67%~32.33% 之间,美国皂荚、洋白蜡和蜡杨梅盐害指数值较高,叶片平均伤害在 1 级以上; $6.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 浓度下,弗栎、美国皂荚、蜡杨梅、洋白蜡、旱柳的叶片盐害指数达到 37.50%~55.83%,叶片边缘出现枯萎,美国悬铃木则基本枯萎落叶。6 个树种中,美国悬铃木受害严重,最早对胁迫作出应激反应,美国皂荚、洋白蜡受害略重,蜡杨梅和弗栎比美国皂荚和洋白蜡稍轻,但差异不明显,旱柳受害最轻。6 个树种的叶片盐害指数表现为:旱柳、弗栎 < 蜡杨梅、美国皂荚、洋白蜡 < 美国悬铃木。

表 1 盐胁迫下树种叶片盐害指数

%

树种	胁迫时间和浓度								
	7 d			14 d			21 d		
	2.0 g·L ⁻¹	4.0 g·L ⁻¹	6.0 g·L ⁻¹	2.0 g·L ⁻¹	4.0 g·L ⁻¹	6.0 g·L ⁻¹	2.0 g·L ⁻¹	4.0 g·L ⁻¹	6.0 g·L ⁻¹
弗栎	6.25	12.50	33.33	6.25	12.50	45.83	8.33	16.67	45.83
美国皂荚	6.25	10.42	37.50	6.25	10.42	45.17	8.33	32.33	54.17
洋白蜡	2.08	14.58	41.67	8.33	20.83	40.67	6.25	29.17	55.83
蜡杨梅	10.58	16.67	41.67	12.83	31.25	44.50	8.33	27.83	50.67
美国悬铃木	25.00	33.33	75.00	41.67	75.00	91.67	52.08	86.30	100.00
旱柳	6.25	8.33	25.00	10.42	20.83	22.33	6.25	25.00	37.50

注: 叶片盐害分级, 1 级: 叶片出现少量卷曲; 2 级: 叶片出现黄化, 部分叶尖或叶缘枯萎呈片状褐斑或轻度落叶; 3 级: 部分叶片枯萎或出现严重落叶; 4 级: 基本落叶或枝条枯死。叶片盐害指数 $D = \sum(\text{盐害级别} \times \text{受害株数}) / (\text{总株数} \times \text{盐害最高级值}) \times 100\%$

2.2 盐胁迫对苗高、地径净生长量的影响

生长抑制是植物对盐渍响应最敏感的过程^[6-7]。方差分析的结果表明: NaCl 浓度对各树种苗高净生长量的影响均为极显著水平 ($P < 0.01$), 地径由于净生长量较低, 为显著水平 ($P < 0.05$)。除旱柳外, 各树种苗高、地径净生长量均随 NaCl 浓度的升高而逐渐降低。以耐受指数 (胁迫值/对照值) 表达不同树种的耐受性, 可以看出, 不同树种的

苗高净生长量胁迫后的响应浓度有差异: 美国悬铃木耐受力较差, 胁迫后其苗高增长立即受到影响; 美国皂荚、洋白蜡在 $4.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 浓度和对照差异显著; 弗栎、蜡杨梅在 $6.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 浓度苗高净生长量和对照差异显著。各树种地径净生长量除美国悬铃木表现为立即响应, 均在 $4.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 浓度与对照差异显著, 但下降幅度不一。

表 2 盐胁迫 10 周 6 个树种苗高、地径净生长耐受指数

树种	苗高				地径			
	ck	2.0 g·L ⁻¹	4.0 g·L ⁻¹	6.0 g·L ⁻¹	ck	2.0 g·L ⁻¹	4.0 g·L ⁻¹	6.0 g·L ⁻¹
弗栎	8.8 ± 2.34	1.09	0.87	0.56	0.14 ± 0.08	1.07	0.64	0.50
美国皂荚	12.7 ± 3.45	1.13	0.65	0.27	0.22 ± 0.14	0.80	0.58	0.40
洋白蜡	16.8 ± 5.67	0.98	0.44	0.13	0.29 ± 0.12	0.90	0.57	0.20
蜡杨梅	6.8 ± 3.45	0.79	0.82	0.52	0.12 ± 0.08	0.80	0.30	0.20
美国悬铃木	20.2 ± 7.23	0.37	-	-	0.23 ± 0.09	0.25	-	-
旱柳	32.6 ± 10.23	0.70	0.71	0.74	0.32 ± 0.34	0.72	0.44	0.38

注: 表中 ck 为净生产量, 其余为耐受指数。

2.3 盐胁迫对树种根、茎、叶、生物量干质量的影响

盐胁迫下不同树种生物量、根、茎、叶干质量差异均达显著水平 (表 3), 盐浓度对根、茎、叶、生物量抑制明显, 并随胁迫浓度的增大抑制的程度逐渐加大。6.0 g·L⁻¹ NaCl 浓度盐胁迫下树种生物量耐受指数 (胁迫/对照) 依次为蜡杨梅、弗栎 > 旱柳、洋白蜡、美国皂荚 > 美国悬铃木, 排序和叶片盐害指数相似。树种各部位干质量耐受指数排序和生物量相似。盐胁迫下树种各部位干质量抑制程度依胁迫浓度而表现不一: 表 3 表明, 中低浓度下基本表现为茎 > 叶 > 根, 茎干质量下降比例较高, 如 2.0 g·L⁻¹ 盐浓度下美国皂荚根、茎、叶分别下降为 84.0%、71.3% 和 81.8%; 4.0 g·L⁻¹ 盐浓度下弗栎分别下降为 80.3%、63.0% 和 76.3%, 茎干是养分储存的场所, 胁迫后养分的分配首先减少储存的部位。高

浓度下叶片受损率较高, 表现为叶 > 茎 > 根, 如 6.0 g·L⁻¹ 盐浓度下美国皂荚根、茎、叶分别下降为 50.6%、41.1% 和 29.3%。各部位干质量下降过程随树种特性略有起伏, 如美国悬铃木表现为叶 > 根 > 茎, 盐胁迫直接危害其营养吸收, 而旱柳、蜡杨梅、弗栎 6.0 g·L⁻¹ 盐浓度下叶、茎下降幅度基本一致。根冠比随胁迫浓度增加而上升, 盐胁迫对树种地上部分的影响要大于地下部分, 盐分对地上部分的危害表现更早。试验还表明, 各树种不同部位下降过程是波动的, 低浓度甚至有所促进, 如 2.0 g·L⁻¹ 盐浓度下洋白蜡的茎、叶干质量分别为对照的 108.4% 和 101.2%。其次, 常绿植物的生物量下降比例较少而落叶植物较多, 这应该和两类植物储存养分的不同形式有关。

表 3 盐胁迫下树种根、茎、叶、生物量干质量变化

树种	NaCl浓度 / (g·L ⁻¹)	根		茎		叶		生物量		根冠比
		干质量 /g	胁迫 / 对照	干质量 /g	胁迫 / 对照	干质量 /g	胁迫 / 对照	干质量 /g	胁迫 / 对照	
弗栎	0.0	17.3±4.32A		13.8±2.97A		19.8±4.32A		50.9±11.42a		0.52
	2.0	16.8±4.45A	0.971	11.9±3.02A	0.862	16.7±4.12B	0.846	45.4±10.54a	0.89	0.59
	4.0	13.9±3.87B	0.803	8.7±2.12B	0.630	15.1±4.21B	0.763	37.7±9.32b	0.74	0.58
	6.0	10.9±2.98C	0.630	7.8±2.32B	0.565	10.1±3.21C	0.545	27.5±8.41c	0.54	0.66
美国皂荚	0.0	15.6±5.21A		12.9±2.76A		10.6±1.89A		39.1±6.87A		0.66
	2.0	13.1±3.45B	0.839	9.2±2.34B	0.713	8.7±2.45B	0.818	31.0±7.21A	0.79	0.73
	4.0	10.4±3.57C	0.667	5.6±1.49C	0.434	6.4±1.84B	0.600	22.4±6.45B	0.57	0.87
	6.0	7.9±2.15D	0.506	5.3±1.97C	0.411	3.1±1.24C	0.293	16.3±5.32C	0.42	0.94
洋白蜡	0.0	17.3±3.21A		15.5±3.52A		10.0±2.12A		42.8±8.21A		0.68
	2.0	15.0±2.67A	0.867	16.8±3.78A	1.084	10.2±2.32A	1.012	42.2±7.45A	0.98	0.56
	4.0	10.2±2.32B	0.590	8.8±2.12B	0.568	7.0±1.87B	0.697	26.0±5.67B	0.61	0.65
	6.0	9.2±2.67B	0.532	6.2±2.02B	0.400	3.8±1.43C	0.378	19.2±5.23B	0.45	0.92
蜡杨梅	0.0	15.3±6.21a		17.2±4.32A		16.1±3.42A		48.6±12.34a		0.46
	2.0	15.8±5.34a	1.033	14.2±3.12B	0.826	13.6±2.13B	0.846	43.6±10.42a	0.90	0.57
	4.0	13.0±3.45b	0.850	11.1±2.11BC	0.645	12.7±1.45B	0.790	36.8±7.54b	0.76	0.55
	6.0	9.4±3.78c	0.614	9.2±1.42C	0.535	9.1±1.67C	0.563	27.7±6.42c	0.57	0.51
美国悬铃木	0.0	9.7±2.42A		7.7±1.5A		8.3±1.87A		25.7±4.64A		0.61
	2.0	6.1±2.25B	0.619	5.8±1.21B	0.753	4.6±1.01B	0.548	16.4±4.01B	0.64	0.58
	4.0	5.6±1.54B	0.577	3.6±0.98C	0.468	-	-	9.2±2.21C	0.46	1.56
	6.0	3.4±1.0C	0.351	2.1±0.67C	0.273	-	-	5.5±1.47D	0.21	1.62
旱柳	0.0	15.9±3.34A		16.2±2.95A		5.3±1.43a		37.4±6.24a		0.74
	2.0	14.1±3.7AB	0.887	12.1±2.12BC	0.747	4.2±1.24a	0.800	30.4±6.11a	0.81	0.86
	4.0	11.9±2.38BC	0.748	9.5±2.32CD	0.586	2.9±0.52b	0.551	24.3±5.02bc	0.65	0.96
	6.0	8.2±2.57C	0.516	7.2±1.32D	0.444	2.6±0.34b	0.498	18.0±4.24c	0.48	0.83

注: 大小写字母分别表示 0.01 和 0.05 显著水平, 字母相同表示差异不显著。

2.4 盐胁迫对树种生理指标的影响

2.4.1 树种细胞膜透性 逆境条件下首先影响细胞膜, 造成膜透性的改变或丧失, 膜透性的测定常作为植物抗性研究的一个重要的生理指标^[8-9]。方差分析(表 4)显示: 各树种叶片相对电导率在 NaCl 浓

度梯度上差异均达到显著水平, 时间梯度上差异不显著, 旱柳、美国皂荚胁迫时间 × 胁迫浓度达到显著水平, 其余树种不显著。数据表明各树种叶片相对电导率对于盐分具有敏感性, 且不同时间段的叶片相对电导率相对稳定。

表 4 盐胁迫下 6 个树种生理指标方差分析

生理指标	变异来源	自由度	旱柳	腊杨梅	美国皂荚	弗栎	洋白蜡	自由度	美国悬铃木
相对电导率	区组	2	12.37*	21.34*	16.67*	9.76*	7.56*	2	9.76*
	时间	3	2.27	1.25	2.98	1.89	2.47	3	1.31
	浓度	3	8.89*	4.17*	7.89*	3.42*	4.89*	1	5.23*
	时间 × 浓度	9	3.47*	2.21*	2.52*	2.16*	2.24*	3	2.36
脯氨酸含量	区组	2	23.47*	13.56*	8.56*	7.78*	9.26*	2	11.76*
	时间	3	35.72*	1.25	3.98*	4.24*	2.87*	3	2.31
	浓度	3	4.42*	3.13*	3.27*	6.42*	6.89*	1	3.91
	时间 × 浓度	9	2.47	3.12*	4.32*	2.56*	3.02*	3	3.36*
SOD 活性	区组	2	7.23*	4.01*	5.56*	6.27*	3.22*	2	12.76*
	时间	3	5.87*	3.43*	18.73*	18.5*	34.2*	3	8.15*
	浓度	3	1.30	1.01	1.73	1.49	3.66*	1	1.22
	时间 × 浓度	9	2.86	2.93*	3.21*	3.26*	4.24*	3	2.34
可溶性蛋白含量	区组	2	26.23*	14.11*	24.11*	16.52*	21.35*	2	11.56*
	时间	3	6.52*	7.13*	1.79	1.45	4.88*	1	3.24
	浓度	3	85.8*	15.25*	7.31*	10.07*	75.78*	3	7.74*
	时间 × 浓度	9	1.78	4.62*	2.27*	1.25	2.97*	3	2.18

注: +、* 和 * * 分别表示在 0.1、0.05 和 0.01 水平上差异显著, 表中数据为 F 值, 误差项省略。

相对电导率反应了树种叶片的电解质外渗^[10], 抗性强的树种细胞膜不易被破坏, 透性小; 抗性差的树种细胞膜被破坏严重, 透性大, 如美国悬铃木细胞膜在高盐下已完全被破坏, 丧失了功能, 本研究的结果反应了这一特性(图 1)。研究发现树种叶片的相对电导率有其响应的区域范围, 大部分树种在 0~4 0 g·L⁻¹ 浓度区域差异不显著, 在高盐浓度区域上升明显, 以低浓度的相对电导率作为指标必须考

虑其代表性。将各时段的树种叶片相对电导率均值与高盐浓度耐受指数进行排序比较, 相对电导率均值从高到低次为美国悬铃木、蜡杨梅、弗栎、洋白蜡、美国皂荚、旱柳, 耐受指数依次为美国悬铃木、蜡杨梅、弗栎、美国皂荚、洋白蜡、旱柳。二者排序基本相似, 均为常绿植物蜡杨梅、弗栎在前, 由于常绿和落叶树种的耐盐方式不同, 尚需考虑树种特种性影响。

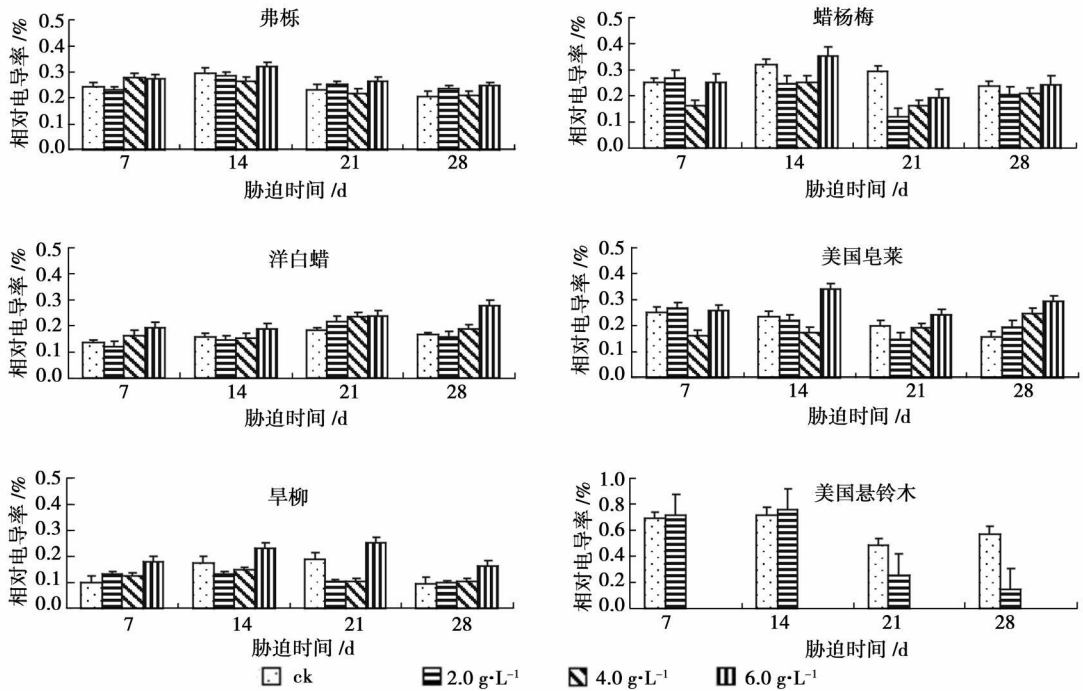


图 1 6 个树种叶片的相对电导率随盐胁迫时间的变化

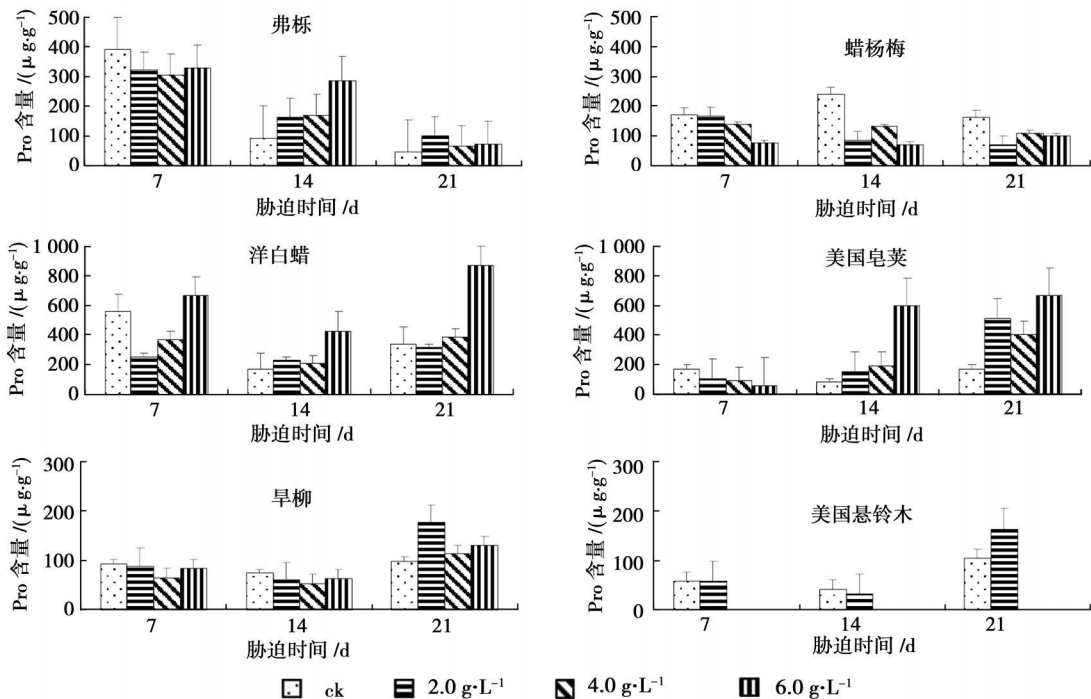


图 2 6 个树种叶片脯氨酸 (Pro) 含量随盐胁迫时间的变化

2.4.2 脯氨酸含量 旱柳、洋白蜡、弗栎、美国皂荚 4 个树种的叶片脯氨酸 (Pro) 含量随胁迫时间或浓度变化均达到显著或极显著水平, 蜡杨梅、美国悬铃木差异不显著。各树种胁迫时间 \times 胁迫浓度均达到显著或极显著水平 (表 4)。有研究认为, 逆境条件下, 大多数植物脯氨酸含量会成倍增加, 其含量越高, 植物体的抗逆能力越强^[11-12], 也有研究认为脯氨酸是逆境条件下的生理响应。图 2 表明: 脯氨酸含量在落叶树种间总体上表现出随胁迫时间和浓度逐步增加的趋势, 但树种间响应时间有差异, 洋白蜡在胁迫 7 d 时即出现脯氨酸含量递增的趋势, 美国皂荚胁迫 14 d 时出现随胁迫浓度增加的趋势, 旱柳在 21 d 表现为响应; 常绿树种弗栎、蜡杨梅响应趋势与落叶树种并不一致, 在时间梯度上表现为降低, 在浓度梯度上规律尚不明显。从本研究结果看, 不同树种的脯氨酸含量变化存在种间和时间效应, 胁迫后脯氨酸含量变化只是反应了树种胁迫后的生理响应。

2.4.3 SOD 活性 植物体内广泛存在的抗氧化酶系统 (超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 等) 能有效清除活性氧, SOD 活性和植物的抗逆性成正相关, 是反映植物抗逆性的一个重要指标。在正常情况下, 当植物遇到胁迫时 (如水涝、盐碱化等) 会通过 SOD 活性来增强抗逆性^[12-13]。试验结果表明 (表 4): 6 个树种不同盐浓度胁迫后的 SOD

活性随时间的变化均达到显著或极显著水平, 在浓度梯度上差异不显著, 除美国悬铃木外, 各树种胁迫时间 \times 胁迫浓度均达到显著或极显著水平。各树种 SOD 活性表现为中低盐度差异不显著, 在高浓度明显增加, 但增加幅度有差异 (图 3)。

酶系统还包括了过氧化氢酶 (CAT)、POD 等, 有证据表明不同树种其清除自由基的酶并不一致^[13-14], 植物通过几种酶相互作用来修复胁迫的损害。从本试验的结果看, 不同树种对 SOD 活性的敏感程度不一, 胁迫后的 SOD 活性变化能反应树种的抗逆响应, 但在树种间缺乏可比性, 应该结合几个指标共同分析。要更加准确地衡量胁迫后酶对活性氧的清理机制, 还有待进一步研究。

2.4.4 可溶性蛋白含量 可溶性蛋白是盐分胁迫条件下植物细胞内重要的渗透调节剂之一, 可溶性蛋白在细胞内的积累对于降低细胞内溶质的渗透势、平衡原生质体内外的渗透压等具有重要作用^[15-16]。美国悬铃木、美国皂荚、弗栎可溶性蛋白含量在盐胁迫下时间梯度上差异不显著, 其余树种在浓度和时间梯度上均为极显著水平。盐胁迫下, 大部分树种的可溶性蛋白含量均表现出随 NaCl 浓度和时间先上升再降低的趋势, 在胁迫后期和高盐浓度下含量降低, 抗性低的美国悬铃木叶片可溶性蛋白含量表现尤为明显 (图 4)。

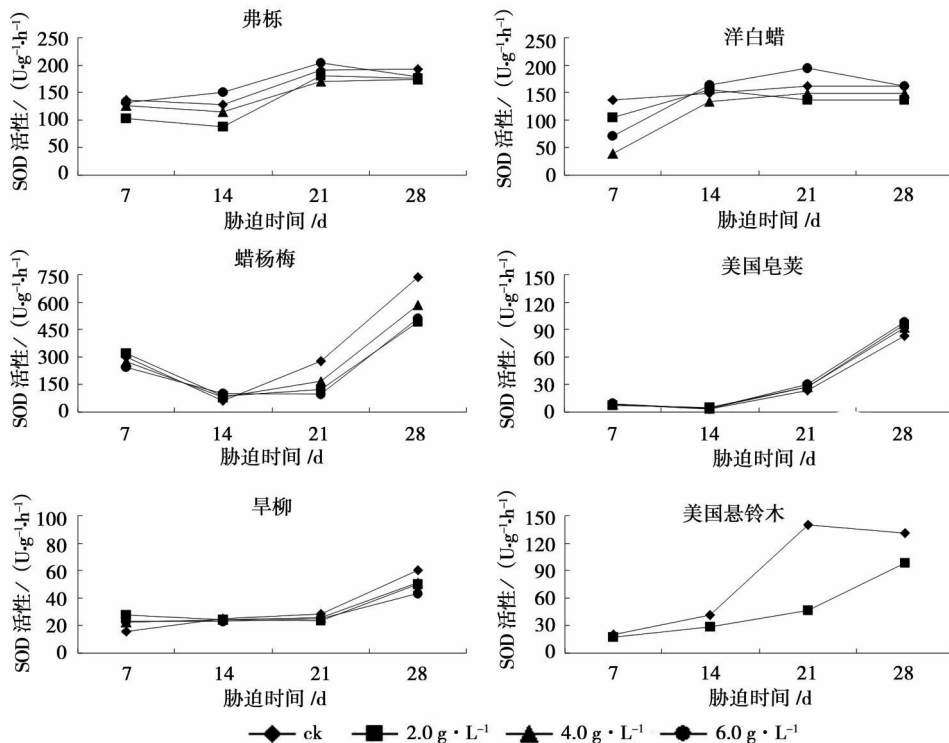


图 3 6 个树种超氧化物歧化酶 (SOD) 活性随盐胁迫时间的变化

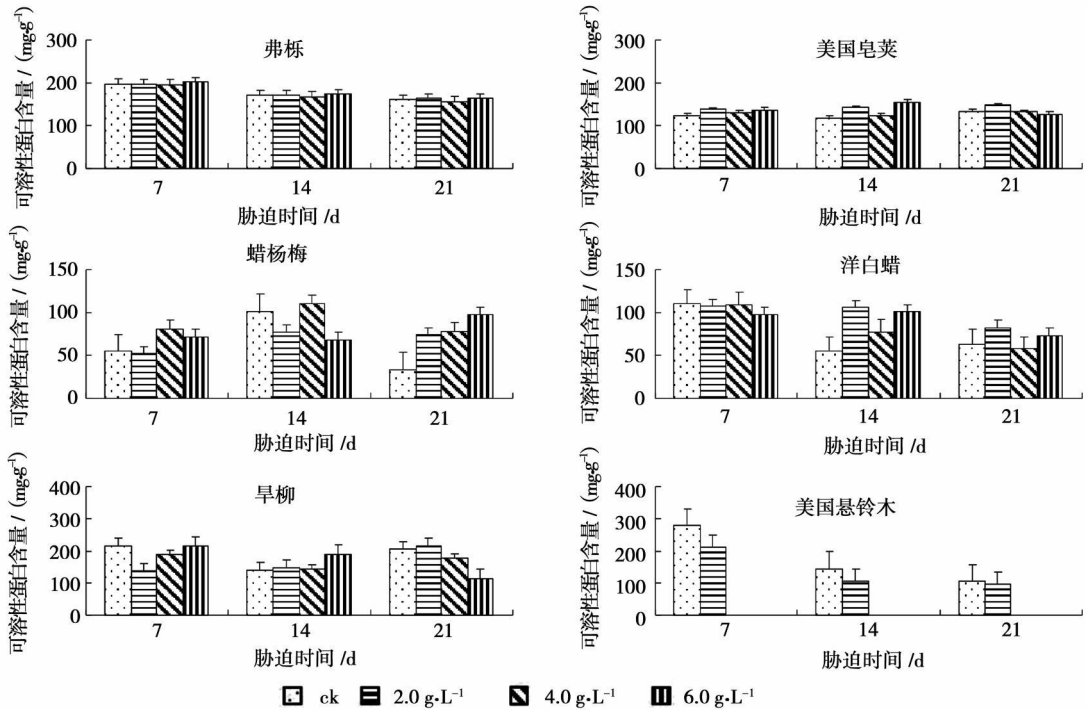


图 4 6 个树种可溶性蛋白含量随盐胁迫时间的变化

2 5 树种生长、生理指标相关性分析和指标选择

2 5 1 树种生长、生理指标相关性分析 不同树种生长、生理指标测定值相关分析(表 5)表明: (1)苗高净生长量、地径净生长量、生物量和叶片盐害指数呈显著或极显著负相关, 各生理指标与叶片盐害指数均为正相关, 但仅相对电导率达到显著水平。说明植物叶片受害越严重, 生长势越差, 各项生理指标反应越激烈, 相对电导率可以作为耐盐评价的指标。(2)除可溶性蛋白含量外, 各生理指标均与苗高净生长量呈显著或极显著负相关。盐分胁迫导致生物

量和苗高净生长量降低, 盐胁迫越重, 植物生理响应越明显。(3)相对电导率和脯氨酸含量呈极显著正相关, 和 SOD 活性呈显著正相关, 说明随着植物细胞膜受胁迫伤害程度的加深, 植物正通过增加渗透势以及提高抗氧化酶活性等生理过程来减轻胁迫对细胞产生的伤害。(4)可溶性蛋白含量和各项生理指标均呈负相关, 与脯氨酸含量呈显著负相关。说明植物可溶蛋白作为渗透调节剂, 有平衡渗透压的重要作用。

表 5 盐胁迫下树种生长、生理指标相关系数

生长、生理指标	X 1	X 2	X 3	X 4	X 5	X 6	X 7
X 2	- 0.387						
X 3	- 0.666 *	0.832 *					
X 4	- 0.727 *	- 0.017	0.174				
X 5	0.391	- 0.720 *	- 0.434	- 0.018			
X 6	0.039	- 0.541 *	- 0.541 *	0.394	0.411		
X 7	0.334	- 0.494 *	- 0.204	- 0.194	0.647 *	0.018	
X 8	0.012	0.458 *	0.224	0.210	- 0.298	- 0.313	- 0.427

注: * 和 * * 分别表示在 0.05 和 0.01 水平上差异显著。X 1 叶害指数, X 2 苗高净生长量, X 3 地径净生长量, X 4 生物量, X 5 相对电导率, X 6 超氧化物歧化酶(SOD)活性, X 7 脯氨酸含量, X 8 可溶性蛋白含量, 下同。

不同树种生长、生理指标耐受指数和叶片盐害指数(绝对值)相关分析(表 6)表明: 其结果与测定值数据相关相似, 但各指标和叶片盐害指数相关增加明显, 如相对电导率和脯氨酸含量与叶片盐害指

数呈显著正相关, 与生物量呈极显著或显著负相关。两个相关分析的结果表明, 指标耐受指数比测定值更能代表树种胁迫后的响应。

表 6 盐胁迫下树种生长、生理指标耐受指数相关系数

生长、生理指标	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7
X2	-0.820*						
X3	-0.878*	0.928*					
X4	-0.892*	0.827*	0.934*				
X5	0.479*	-0.371	-0.219	-0.563*			
X6	0.357	-0.223	-0.189	-0.358	0.010		
X7	0.399*	-0.476*	-0.236	-0.513*	0.686*	0.143	
X8	0.290	-0.312	-0.297	-0.166	0.251	0.412*	0.033

2.5.2 树种生长、生理指标主成分分析 对树种叶害指数、苗高净生长量、地径净生长量、苗木生物量、相对电导率、脯氨酸含量、SOD 活性、可溶性蛋白含量、根冠比 9 个指标比值进行主成分分析 (表 7), 共有 2 个主成分入选。结合特征向量来看, 第 1 个主成分中主要包括了苗高净生长量、相对电导率、SOD 活性 3 个变量的信息, 第 2 个主成分主要包括了叶片盐害指数、生物量、脯氨酸含量 3 个变量的信息, 初步说明了各个变量所代表信息的重要性强弱。两个主成分的累计贡献率为 82.43%, 说明这 2 个主成分能代表 5 个主成分表达的信息。

2.6 树种生长、生理指标评价

采用多维空间 (欧几米德) E_n 多向量理论综合评定树种耐盐性, 即综合评估数学模型“座标综合评定法”, 以每列最大值为 1 (标准值), 用其为除数除以该列其他数值, 计算各数值离差平方和:

$$\sum p_i^2 = W_i \sum (1 - a_{ij})^2$$

其中 W_i 为权重向量, 以等权方法判定结果, 其综合值越小排序越前。采用主成分筛选出来的 6 个

指标为苗高净生长量、脯氨酸含量、SOD 活性、叶片盐害指数、生物量、相对电导率 (表 8), 数据经正向处理 (值越高越好), 除叶片盐害指数采用绝对值外, 其余均采用指标耐受指数。结果表明, 6 个树种耐盐顺序为: 旱柳、弗栎 > 美国皂荚、洋白蜡、蜡杨梅 > 美国悬铃木。

表 7 盐胁迫下 6 个树种 R 型分析主分量

性状	第 1 主分量	第 2 主分量	第 3 主分量
叶害指数	-0.199	0.499	-0.387
苗高净生长量	-0.718	-0.239	-0.123
地径净生长量	0.282	-0.201	0.463
生物量	-0.203	0.531	0.196
相对电导率	-0.479	-0.163	-0.064
SOD 活性	0.431	0.188	0.013
脯氨酸含量	0.235	0.494	0.185
可溶性蛋白含量	0.272	-0.099	-0.636
根冠比	-0.231	0.029	0.471
特征值	4.757	2.662	0.991
贡献率 %	52.85	29.58	11.01
累计贡献率 %	52.85	82.43	93.44

表 8 树种耐盐性综合评价

树种	叶害指数	苗高净生长量	生物量	相对电导率	SOD 活性	脯氨酸含量	得分
弗栎	0.16	0.00	0.08	0.25	0.15	0.34	0.98
皂荚	0.31	0.04	0.42	0.21	0.37	0.00	1.35
洋白蜡	0.34	0.24	0.36	0.18	0.00	0.29	1.41
蜡杨梅	0.23	0.36	0.00	0.35	0.47	0.18	1.59
美国悬铃木	0.59	0.66	0.66	0.37	0.56	0.40	3.24
旱柳	0.00	0.19	0.22	0.00	0.36	0.14	0.91

3 结论与讨论

国内外研究人员对现有树种开展了大量的耐盐性测定工作, 如曹福亮^[17]综合评价了南方 7 个造林树种苗木耐盐能力, 认为刺槐 (*Robinia pseudoacacia* Linn) 和银杏 (*Ginkgo biloba* L.) 耐盐能力较强, 柏木 (*Cupressus funebris* Endl) 和中山杉 (*Taxodium distichum* × *T. mucronatum*) × *T. mucronatum*

(‘Zhongshanshan’) 中等, 杉木 (*Cunninghamia lanceolata* (Lamb) Hook)、火炬松 (*Pinus taeda* Linn) 和马尾松 (*P. massoniana* Lamb) 较差。杨传平等^[9]研究发现针叶树樟子松 (*P. sylvestris* var *mongolica* Litv)、华山松 (*P. amandii* Franch)、红松 (*P. koraiensis* Sieb et Zucc) 耐盐性较强, 黑松 (*P. thunbergii* Parlatores) 抗性中等, 落叶松 (*Larix gmelinii* (Ruprecht) Kuzeneva)、红皮云杉 (*Picea koraiensis*

Nakai) 抗性较差; 阔叶树白榆 (*Ulmus pumila* L.)、水曲柳 (*Fraxinus manschurica* Rupr.) 抗性较强, 黑林 3 号杨、中绥 12 号杨及紫椴 (*Tilia amurensis* Rupr.) 耐盐性处于中等水平, 118 号杨、798601 号杨、白桦 (*Betula platyphylla* Suk.) 的抗性最差。从研究方法来看, 这些研究大体是两种鉴定方法: 直接鉴定法和生理鉴定法。直接耐盐鉴定方法又可分为发芽法、形态观察法、存活率法和产量比较法^[15]。如郭朝辰通过调查含盐量不同的盐土上杨树 (*Populus* spp.) 成活率, 对 8 种杨树的抗盐性进行了排序鉴定。

生理鉴定法目前没有可靠的标准。生理指标包括超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 活性和丙二醛 (MDA)、可溶性蛋白含量、脯氨酸 (Pro) 含量以及植物对 Na^+ 、 K^+ 的选择性吸收程度等均被认为和耐盐有关^[18]。植物耐盐性是一种综合性状的表现, 不同植物由于其耐盐方式和耐盐机理的不同, 其组织或细胞的生理代谢和生化变化也不同。如何正确评价引进树种的耐盐性差异, 降低单个指标引起的选择误差, 许多研究做了尝试。如赵可夫等^[19]提出用细胞膜透性、渗透调节能力、植物体内盐分含量及光合能力 4 项指标综合评定, 董晓霞等^[20]利用多项生理指标对杂交酸模进行评定等。刘振虎等^[21]进一步用层次法对草坪草的耐盐性进行评价, 对生长性状和生理指标赋予不同权重, 根据研究目标进行权重调整。

本试验以水培条件为基础, 以弗栎、美国皂荚、蜡杨梅、美国悬铃木、洋白蜡和乡土树种旱柳为试材, 研究了盐胁迫对几个树种生物量、细胞膜透性、脯氨酸含量, SOD 活性和可溶性蛋白含量的影响, 分别对指标的代表性进行评价。研究发现, 叶片盐害指数是树种盐害的最直观表现, 树种叶片盐害在胁迫浓度和持续时间上, 表现出和抗性相关的响应速率和受害症状。生长和生物量指标同样和植物抗性相关明显, 树种抗性越低, 植物生长受抑制的程度越大, 受逆境胁迫影响越明显。在树种的耐盐能力评价中, 生长和生物量是最具直观代表的指标。

研究还表明, 树种的生理生化过程在盐胁迫下具有共性特点, 细胞膜透性、脯氨酸含量、SOD 活性均随 NaCl 浓度的增加和处理时间的延长表现出逐渐增加的趋势, 中低盐度胁迫下增加趋势不明显, 高盐度胁迫下迅速上升; 同时, 生理指标在胁迫浓度和胁迫时间上存在交互作用, 不同树种的生理指标在响应时间和浓度上有差异, 这种差异使得生理指标

的量化比较存在难度。其次, 由于树种的耐盐方式不同, 各指标的本底也不一致, 直接采用测定值易于造成偏差, 相关分析的结果表明, 采用指标耐受指数比测定值更能反应盐胁迫后的响应。

生长、生理指标具有协同和关联性, 盐胁迫导致生物量和苗高净生长量降低, 盐胁迫浓度越高, 植物生理响应越激烈, 仅采用生长指标就忽视了生理生化过程对于植被的修复潜力, 因此, 应采用二者联合对树种耐盐性进行综合评价。文中根据主成分分析的结果筛选了 6 个指标, 即树种叶害指数、苗高净生长量、苗木生物量、相对电导率、脯氨酸含量、SOD 活性, 并采用座标法对 6 个树种耐盐进行排序, 顺序为: 旱柳、弗栎 > 美国皂荚、洋白蜡、蜡杨梅 > 美国悬铃木, 基本反应了各树种的耐盐程度。

树种耐盐性评价仅仅是育种工作的基础, 林木育种专家相继在火炬松、湿地松 (*P. elliotii* Engelm.)、辐射松 (*P. radiata* D. Don)、池杉 (*Taxodium ascendens* Brongn.)、栎类 (*Quercus* spp.)、木麻黄 (*Casuarina equisetifolia* L.)、桉类 (*Eucalyptus* spp.) 等树种上揭示了种源、家系及个体间的耐盐性遗传差异。澳大利亚桉树专家利用盐土播种, 筛选表现优良的单株, 并繁育成无性系, 其抗盐能力大大提高, 证实耐盐选育的可行性。进一步的育种工作应通过采用大田和实验室结合的手段, 以田间大量耐盐植株的筛选为基础, 结合植物结构特点和盐胁迫下生理生化指标的变化趋势, 研究其遗传控制模式和遗传力, 准确评估各耐盐功能性状的基因型变异, 结合分子育种手段提高植物耐盐性, 这才是一条理想的途径。

参考文献:

- [1] Yeonghoo K, Joji A, Takuji N, et al. Antioxidative responses and their relation to salt tolerance in *Echinochloa oryzicola* Vasing and *Setaria viridis* (L.) Beau [J]. Plant Growth Regulation, 2004, 44: 87-92
- [2] 许祥明, 叶和春, 李国凤. 植物抗盐机理的研究进展 [J]. 应用与环境生物学报, 2000, 6(4): 379-387
- [3] 赵可夫, 范海. 盐胁迫下真盐生植物与泌盐植物的渗透调节物质及其贡献的比较研究 [J]. 应用与环境生物学报, 2000, 6(2): 99-105
- [4] 中国科学院上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南 [M]. 北京: 科学出版社, 2004
- [5] 陈竹生, 聂华堂, 计玉, 等. 柑橘种质的耐盐性鉴定 [J]. 园艺学报, 1992, 19(4): 289-295
- [6] 肖雯, 贾恢先, 蒲陆梅. 几种盐生植物抗盐生理指标的研究 [J]. 西北植物学报, 2000, 20(5): 818-825

- [7] Maynard G H, David M O. The physiology of plant under stress [M]. New York: John Wiley & Son, 1987: 89-119
- [8] Moran J F, Becana M, Irkkoenatxej *et al*. Drought induces oxidative stress in pea plants [J]. *Plant* 1994, 94: 346-352
- [9] 杨传平, 焦喜才, 刘文祥, 等. 树木的细胞膜透性与抗盐性 [J]. 东北林业大学学报, 1997, 25 (1): 1-3
- [10] McKay H M, Mason W L. Physiologically indicators of tolerance to cold storage in Sitka spruce and Douglas fir seedlings [J]. *Canadian Journal Forest Research*, 1991, 21 (6): 890-901
- [11] Delauney A J, Vema D P S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants [J]. *Plant* 1993, 4: 215-223
- [12] 王波, 宋凤斌. 燕麦对盐碱胁迫的反应和适应性 [J]. 生态环境, 2006, 15(3): 625-629
- [13] 杜秀敏, 殷文璇, 赵彦修, 等. 植物中活性氧的产生及清除机制 [J]. 生物工程学报, 2001, 17 (2): 121-125
- [14] 刘祖祺. 植物抗性生理学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1993: 237-291
- [15] 张川红, 尹伟伦, 沈漫. 盐胁迫对国槐和中林 46 杨幼苗膜类脂的影响 [J]. 北京林业大学学报, 2002, 24(5-6): 89-95
- [16] 马焕成, 蒋东明. 木本植物抗盐性研究进展 [J]. 西南林学院学报, 1998, 18(1): 52-59
- [17] 曹福亮. 中国南方主要造林树种耐盐耐旱机理研究 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1993
- [18] Bai W enba, Li Pinfang. Effect of salt stress on growth and absorption and transportation of K^+ and Na^+ in *Iris lactea* var *chinensis* [J]. *Soils* 2005, 37(4): 415-420
- [19] 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]. 植物学通报, 1997, 14(增刊): 25-30
- [20] 董晓霞, 郭洪海, 孔令安, 等. 杂交酸模耐盐性鉴定的生理指标筛选 [J]. 山东农业科学, 1999(6): 22-24
- [21] 刘振虎, 卢欣石, 葛军, 等. 利用层次分析法综合评价 9 个草坪品种的耐盐性 [J]. 草地学报, 2002, 10(3): 207-211