

文章编号: 1000-5471(2007)04-0025-05

NaCl 胁迫对澳洲坚果叶片生理生化特性的影响^①

刘建福

1. 华侨大学 生物工程系, 福建 泉州 362021;
2. 华侨大学 工业生物技术福建省高等学校重点实验室, 福建 泉州 362021

摘要: 以 2 年生澳洲坚果幼苗为试验材料, 研究不同 NaCl 浓度条件下叶片 SOD 和 POD 活性、MDA 含量、叶绿素含量以及光合作用的变化。结果表明: 低盐胁迫(NaCl 浓度低于 60 mmol/L)下, 随着 NaCl 浓度升高, SOD 和 POD 活性以及 MDA 含量缓慢增加; 而 Chl a、Chl b、Chl a+Chl b 和 Chl a/Chl b 含量则缓慢下降。高盐胁迫(60~300 mmol/L NaCl), 显著降低 SOD 和 POD 活性, 叶绿素含量, 水分利用效率以及叶片光合能力; 显著增加 MDA 含量。这表明澳洲坚果在 NaCl 浓度低于 60 mmol/L 的盐土里能正常生长。

关键词: 澳洲坚果; 膜脂过氧化; 光合特性; 盐胁迫; 保护酶

中图分类号: S664; S131⁺.2

文献标识码: A

盐碱土以土壤溶液中 Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} 及 CO_3^{2-} , HCO_3^- , Cl^- 和 SO_4^{2-} 含量高为主要特征, 尤其是高含量 Na^+ 和 Cl^- 。土壤盐渍化是一个世界性的资源和生态问题, 我国沿海各地广泛分布着各种滨海盐土, 主要包括广东, 福建, 浙江等省份, 因而对植物的耐盐性进行研究具有重要意义^[1-3]。有关盐胁迫对不同果树叶片细胞膜透性、活性氧代谢、光合色素、蛋白质及脯氨酸含量^[4-6]等生理特性的影响已有研究。

澳洲坚果(*Macadamia integrifolia* Maiden & Betche)原产于澳大利亚昆士兰与新南威尔的亚热带雨林, 系山龙眼科澳洲坚果属植物。澳洲坚果的逆境生理特性虽有一定的研究^[7-10], 但有关盐胁迫下澳洲坚果生理生化特性变化以及耐盐性能的研究尚未见报道。由于水培法具有简便、快速、易控制等优点, 在果树逆境生理研究中已被广泛应用, 因此本试验采用水培法对澳洲坚果进行不同的 NaCl 浓度处理, 研究超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性、叶绿素含量、光合特性、丙二醛(MDA)含量对 NaCl 胁迫的生理响应, 分析澳洲坚果的耐盐性能, 旨在为澳洲坚果的盐碱地栽培提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

本试验采用 2 年生澳洲坚果(品种为 Kau)的实生苗作为试验材料。栽植前平均株高为 40.1 cm, 地径 0.38 cm。

1.2 试验设计

苗木培养基质为石英砂。先将石英砂用水浸泡, 洗去泥土, 再经 0.5% 盐酸浸泡 24 h, 然后用自来水冲洗, 使石英砂呈中性。再将石英砂装入底径 23.0 cm, 上口径 29.0 cm, 高 30.0 cm 的塑料桶中(体积约为 13L), 上沿空出 2~3 cm, 以便浇水和浇灌营养液。将澳洲坚果苗木移至装有石英砂的塑料桶中栽培, 每桶 3 株。每隔 1 d 浇 1 次营养液, 每次每桶浇 100 mL, 每天每桶浇水约 200 mL。培养液为 Yoshida 配方, pH

① 收稿日期: 2007-04-20

基金项目: 华侨大学科研基金项目(03HZR1)。

作者简介: 刘建福(1975-), 男, 福建省泉州市人, 讲师, 硕士。主要从事植物学和生物技术。

调至 6.0. 分别于 2006 年 3 月 10 日和 2006 年 5 月 10 日进行 NaCl 浓度为 0, 20, 40, 60, 100, 200, 300 mmol/L 的试验, 每个处理 3 次重复. NaCl 胁迫处理 20 d 后取样进行各项指标测定.

1.3 测定方法

1.3.1 叶片光合特性的测定

叶片光合作用参数测定用美国 CID 公司制造的 CI-340 便携式光合作用测定系统的开放气路进行测定. 选择植株中上部树冠外围功能叶片(枝条顶端往下第 4 个叶片)进行测定, 每个处理测 3 株, 每株选不同方位 4 个方向, 每个方向测 5 个叶片, 每叶片测定 3 次. 光合速率的测定选择晴天进行, 测定时间为 9:00~11:00. 仪器同步记载净光合速率(Pn)、气孔导度(Cs)、胞间 CO₂ 浓度(Ci)和蒸腾速率(Tr)等参数. 水分利用效率(WUE)用净光合速率与蒸腾速率之比表示.

叶绿素含量采用丙酮浸提法测定^[6].

1.3.2 叶片膜脂过氧化和保护酶活性的测定

丙二醛(MDA)的含量采用硫代巴比妥酸(TBA)反应法^[11]; 超氧化物歧化酶(SOD)的活性采用氧化硝基四氮唑蓝(NBT)法测定^[12], 以 SOD 抑制 NBT 光还原 50% 为一个酶活性单位(U); 过氧化物酶(POD)的活性采用愈创木酚氧化法^[13].

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫对澳洲坚果叶片 SOD 和 POD 活性的影响

SOD 可消除植物体内活性氧的积累, 减少其对细胞膜结构的伤害. 由图 1 可知, 随着 NaCl 浓度增加, SOD 活性呈现先上升后下降, NaCl 浓度达到 60 mmol/L 时 SOD 活性达到最高值 68 U/g, 比对照上升了 30.77%; NaCl 浓度为 300 mmol/L 时 SOD 活性下降 64.81%. 由此可见, NaCl 浓度低于 60 mmol/L 时 SOD 活性较高, 高于 60 mmol/L 时 SOD 活性急剧下降, 说明澳洲坚果叶片 SOD 活性对 NaCl 浓度低于 60 mmol/L 表现出一定忍耐力.

POD 可以清除线粒体或胞浆中产生的低浓度 H₂O₂, 减少细胞膜不饱和脂肪酸过氧化作用产物丙二醛的积累, 对细胞起到保护作用. 由图 2 可知, NaCl 浓度低于 60 mmol/L 时 POD 活性缓慢上升但差异不显著, 当 NaCl 浓度高于 60 mmol/L 时 POD 活性显著下降且低于对照. 可见, 当 NaCl 浓度低于 60 mmol/L 时, 澳洲坚果叶片的 SOD 活性和 POD 活性表现出上升, 高于 60 mmol/L 时 SOD 活性和 POD 活性均显著下降, 造成对细胞的严重伤害.

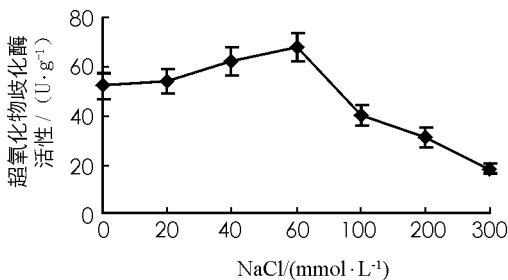


图 1 NaCl 胁迫下澳洲坚果叶片 SOD 活性的变化

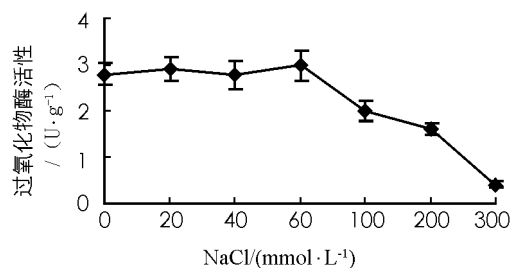


图 2 NaCl 胁迫下澳洲坚果叶片 POD 活性的变化

2.2 NaCl 胁迫对澳洲坚果叶片 MDA 含量的影响

MDA 是膜脂受活性氧伤害而发生氧化的产物, 其含量可以反映植物遭受逆境伤害程度. 从图 3 可以看出, NaCl 浓度高于 60 mmol/L 时, MDA 含量急剧上升且显著高于对照; 这种现象正好与 SOD 活性和 POD 活性相反($R = -0.9042$). 可见, 当 NaCl 浓度高于 60 mmol/L 时, 叶片累积的 MDA 显著增加, 从而对生物膜和细胞造成一定伤害.

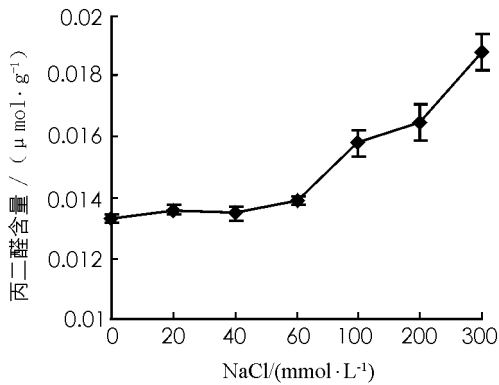


图3 NaCl 胁迫下澳洲坚果叶片丙二醛含量的变化

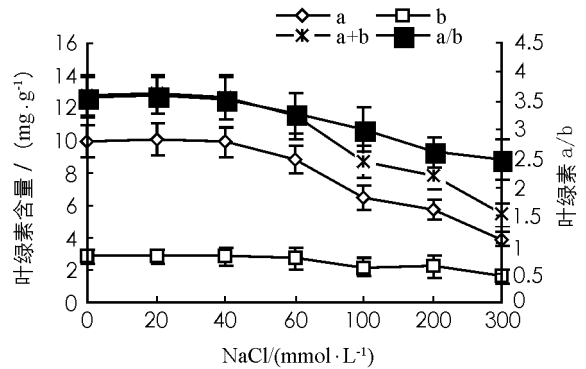


图4 NaCl 胁迫下澳洲坚果叶片叶绿素含量的变化

2.3 NaCl 胁迫对澳洲坚果叶片叶绿素含量的影响

由图4可知, NaCl 浓度高于 60 mmol/L 时, 叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素含量以及叶绿素 a 与叶绿素 b 比值均显著下降; 可见, NaCl 浓度高于 60 mmol/L 抑制了叶绿素合成, 加快了叶绿素分解. 通过植株形态观察发现, NaCl 浓度低于 60 mmol/L, 澳洲坚果叶片颜色均呈鲜绿色; 浓度为 100 mmol/L~200 mmol/L, 叶片颜色呈黄绿色; 而浓度为 300 mmol/L 时, 植株底部叶片呈现轻微的萎蔫, 发黄.

2.4 NaCl 胁迫对澳洲坚果叶片光合特性的影响

由图5~图7可以看出, 不同 NaCl 浓度处理下澳洲坚果叶片的气孔导度、蒸腾速率、水分利用效率和净光合速率均呈现下降. 当 NaCl 浓度高于 60 mmol/L 时, 气孔导度、蒸腾速率、水分利用效率和净光合速率均显著下降且处理间差异显著. NaCl 浓度为 100, 200 和 300 mmol/L 时, 气孔导度分别降低了 41.20%, 61.04% 和 74.96%; 蒸腾速率分别下降了 37.10%, 58.61% 和 71.39%; 净光合速率分别下降了 33.64%, 84.66% 和 94.31%. 胞间 CO₂ 浓度表现为缓慢上升, NaCl 浓度为 100, 200 和 300 mmol/L 时, 分别增加了 3.56%, 12.98% 和 21.12%.

2.5 NaCl 胁迫对澳洲坚果叶片水分利用效率的影响

不同 NaCl 浓度对澳洲坚果叶片水分利用效率也有明显影响. 植物水分利用效率也是衡量植物生长的重要指标之一, 提高水分利用效率也是提高作物产量的重要途径. 从图8可以看出, 在不同 NaCl 浓度下澳洲坚果水分利用效率表现为先上升后下降的变化趋势; 当 NaCl 浓度低于 100 mmol/L 时, 水分利用效率缓慢上升, NaCl 浓度为 100 mmol/L 水分利用效率增加了 13.94%, NaCl 浓度为 300 mmol/L 水分利用效率下降了 40.24%. 这表明 NaCl 浓度高于 100 mmol/L 时澳洲坚果水分利用能力下降, 影响澳洲坚果生长.

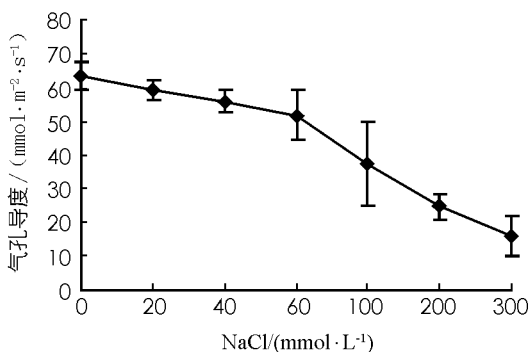


图5 不同 NaCl 浓度下澳洲坚果叶片气孔导度的变化

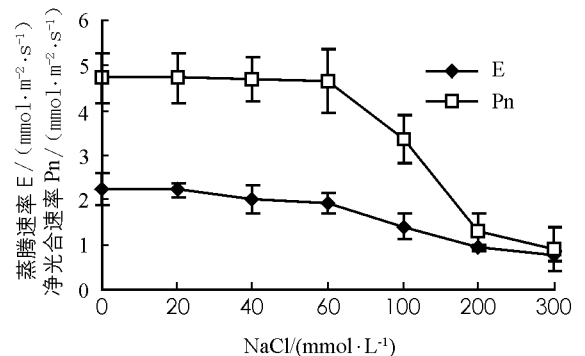


图6 不同 NaCl 浓度下澳洲坚果叶片蒸腾速率和净光合速率的变化

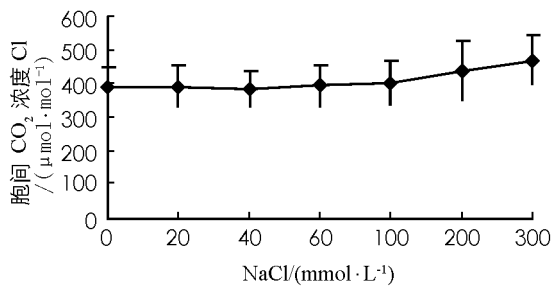


图 7 不同 NaCl 浓度下澳洲坚果叶片胞间 CO₂ 浓度的变化

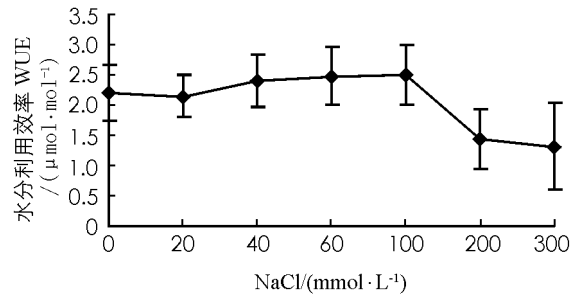


图 8 不同 NaCl 浓度下澳洲坚果叶片水分利用效率的变化

3 讨论

1) SOD 和 POD 是活性氧清除系统的重要保护酶。关于这些保护酶与植物抗逆性关系的研究表明, 不同植物种类甚至同种植物不同品种的保护酶活性变化方向和幅度不同, 植物抗逆性大小与植物保护酶系统活性变化有一定关系。本试验结果表明, NaCl 浓度低于 60 mmol/L, 澳洲坚果叶片 SOD 和 POD 活性缓慢增加, 当 NaCl 浓度高于 60 mmol/L 时, 其活性急剧下降, 这表明澳洲坚果对低盐 (NaCl 浓度低于 60 mmol/L) 有一定耐性。高浓度 NaCl 胁迫植物体内 SOD 和 POD 活性下降, 导致 MDA 含量增加, 说明高浓度 NaCl 胁迫引起了植物体内活性氧的积累和膜脂过氧化作用的加剧, NaCl 浓度越高澳洲坚果叶片 MDA 含量就越高, 因此 MDA 可以作为作物耐盐的生理指标之一。

2) 叶绿体是植物光合作用的场所, 也是细胞对盐最敏感的细胞器。试验表明, NaCl 浓度低于 60 mmol/L, Chl a、Chl b、Chl a+Chl b 和 Chl a/Chl b 含量缓慢下降但变化不显著, 而 NaCl 浓度高于 60 mmol/L 胁迫时则显著下降。因此认为澳洲坚果在低于 60 mmol/L NaCl 的盐土里能维持生长。澳洲坚果耐盐性较低, 只适合生长于低度盐土环境。

3) 盐胁迫下光合作用受抑制是多种因素共同作用的结果, 既包括渗透胁迫引起的气孔限制因素, 也包括非气孔限制因素。当 C_i 降低和 C_s 下降, 则气孔因素是主要的; 如 C_i 升高和 C_s 下降则非气孔因素是主要的^[14]。本试验表明, 高于 60 mmol/L NaCl 胁迫后, 澳洲坚果光合能力 (P_n) 减弱, 水分利用率 (WUE) 降低, 气孔导度 (C_s) 下降, 胞间 CO₂ 浓度 (C_i) 升高。可见, 光合作用的主要限制因素是非气孔因素。

4) 初步认定 60 mmol/L NaCl 浓度可以作为澳洲坚果的耐盐阈值。对于澳洲坚果而言, NaCl 浓度高于 60 mmol/L 净光合速率的降低, 既包括渗透胁迫引起的气孔因素, 也包括非气孔限制因素。此外, 综合各项指标表明, 净光合速率、丙二醛含量、叶绿素含量、SOD 活性和 POD 活性可以作为澳洲坚果耐盐性的生理指标。

参考文献:

- [1] Radic, Sandra, Radic-Stojkovic, et al. Influence of NaCl and mannitol on peroxidase activity and lipid peroxidation in *Centaurea ragusina* L. roots and shoots[J]. *J. Plant Physiol*, 2006, 163 (12): 1284 - 1292.
- [2] Mediavilla S, Santiago H, Escudero A. Stomatal and mesophyll limitations to photosynthesis in one evergreen and one deciduous Mediterranean oak species[J]. *Photosynthetica*, 2002, 40: 553 - 559.
- [3] Basu S, Gangopadhyay G, Mukherjee B B. Salt tolerance in rice in vitro: Implication of accumulation of Na⁺, K⁺ and praline[J]. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 2002, 69: 55 - 64.
- [4] Sahu A C, Sahoo S K, Sahoo N. NaCl stress induced alteration in glutamine synthetase activity in excised senescing leaves of a salt sensitive and a salt tolerant rice cultivar in light and darkness[J]. *J. Plant Growth Regul*, 2001, 34: 287 - 292.
- [5] Khan M H, Panda S K. Induction of oxidative stress in roots of *Oryza sativa* L. in response to salt stress[J]. *Biol Plant*, 2002, 45: 625 - 627.
- [6] Hassan I A. Interactive effects of salinity and ozone pollution on photosynthesis, stomatal conductance, growth and as-

- similate partitioning of wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Photosynthetica*, 2004, 42: 111 – 116.
- [7] Liu J F, Ni S B, Jiang J G, et al. Effect of relative humidity on macadamia's pollen vigor, fertility and physiological character[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2002, 23 (2): 48 – 52.
- [8] Liu J F, Tang Q L, Ni S B, et al. Effect of water stress on the kinetic parameter of fluorescence in chlorophylla of macadamia nut[J]. *Journal of Huaqiao University (Natural Science)*, 2003, 24 (3): 305 – 309.
- [9] Liu J F, Chen C J, Lin S B, et al. Effects of nutrition stress on physiological characters of macadamia nut[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2002, 15(3): 90 – 93.
- [10] Liu J F, Chen L L, Tang Q L, et al. Effects of soil water stress on the growth of macadamia at the flowering stage[J]. *Journal of Southwest Agricultural University*, 2004, 26 (6): 735 – 739.
- [11] 张志良, 瞿伟菁主编. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 62 – 67.
- [12] Hoai N T T, Shim I S, Kobayashi K, et al. Accumulation of some nitrogen compounds in response to salt stress and their relationships with salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings[J]. *J. Plant Growth Regul*, 2003, 41: 159 – 164.
- [13] Wang A G, Luo G H, Shao C B et al. A study on the superoxide dismutase of soybean seeds[J]. *Acta Phytophysiol Sin.*, 1983, 9(1) : 77 – 831.
- [14] Cakamsk I, Marschner H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves[J]. *Plant Physiol.*, 1992, 98: 1222 – 1227.

Effects of Salt Stress on the Physiological and Biochemical Characteristics in *Macadamia Integrifolia* Seedlings

LIU Jian-fu

1. Department of Bioengineering, HuaQiao University, Quanzhou, Fujian 362021;

2. Key Laboratory of Industrial Biotechnology (HuaQiao University), Fujian Province University, Quanzhou, Fujian, 362021

Abstract: The author used two-year old macadamia seedlings as experimental material. In this article, the test was conducted that changer of activities of protective enzymes superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and MDA contents and different physiological indexes of net photosynthesis rate, stomatal conductance, intercellular CO₂ concentration, transpiration rate and chlorophyll content in leaf of these seedlings were determined while macadamia integrifolia was treated with 0, 20, 40, 60, 100, 200 and 300 mmol/L salt stress of NaCl for 60 days. The results showed that stress at low NaCl concentration (0~60 mmol/L) POD activity and SOD activity and MDA contents raised slowly, but chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, the ratio of chlorophyll a and chlorophyll b declined not remarkably. stress at high NaCl concentration (60~300 mmol/L), significantly reduced POD activity and SOD activity, chlorophyll content, water use efficiency, net photosynthetic rate, but increased MDA contents. It can maintain growth under 0~60 mmol/L NaCl concentration.

Key words: *macadamia integrifolia* Maiden & Betche; lipid peroxidation; photosynthetic character; NaCl stress; defensive enzyme

责任编辑 陈绍兰