

土壤干旱和盐胁迫 对帕洛特王幼苗生长及生理特性的影响

黄晓霞, 胡少波, 邓莉兰

(西南林业大学 园林学院, 云南 昆明 650224)

摘要:以山龙眼科木本切花植物帕洛特王 1 a 生扦插苗为材料, 研究其对土壤干旱和盐胁迫的生长、形态及生理生化反应的影响。结果表明: 干旱及盐胁迫对帕洛特王幼苗的生长及各器官的生物量积累无显著影响。干旱条件下, 根/冠比显著增加, 说明该植物可以通过地上地下生物量的分配来积极地适应干旱。盐胁迫下, 帕洛特王幼苗叶片相对含水量显著下降, 叶绿素 a 含量显著上升, 抗氧化酶活性及可溶性渗透调节物质也显著增加, 说明该植物可通过一系列生理生化特性的改变来积极抵抗盐胁迫。在该研究中, 干旱处理及盐处理对帕洛特王植株影响较小, 说明帕洛特王对于土壤干旱及盐分具有一定的耐受性。

关键词:帕洛特王; 干旱胁迫; 盐胁迫; 形态生长; 生理生化

中图分类号:S 682.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)15-0097-04

随着全球气候变暖及水土流失增多, 温室效应和土壤盐碱化加剧, 干旱和盐胁迫成为威胁植物生存和生长的主要灾害, 不仅造成农作物的减产、造林树种的死亡, 并且也降低了城市园林观赏植物的多样性, 制约

了花卉产业的发展, 因此引进或培育耐干旱、耐盐碱的种、品种已成为目前花卉业的热点课题。帕洛特王 (*Protea cynaroides* Linn.) 又名帝王花, 为山龙眼科帕洛特属植物, 南非国花, 被誉为“花王”, 是一类新型的切花及园林观赏植物资源^[1], 原产南非开普敦地区, 见于低矮山坡和丛林中, 喜温暖、稍干燥、排水良好和阳光充足的环境^[2]。由于山龙眼科木本鲜切花具有非常好的市场前景, 西南林业大学“948”项目研究组对山龙眼科多种切花植物进行了组织培养和栽培技术研究, 并取得了一定的研究结果, 为山龙眼科植物在我国的引种生产奠定了基础^[3-7]。现以山龙眼科木本切花植物帕洛特王为材料, 通过半控制试验研究干旱胁迫及盐胁迫下帕洛特王幼苗在外部形态特征、生物量分配、叶绿素含量、抗氧化系统酶等方面的响应差异, 探究该木本切花植物对干旱及盐胁迫的抗性生理, 其研究结

第一作者简介:黄晓霞(1980-), 女, 四川成都人, 博士, 讲师, 现主要从事园林植物栽培及繁殖应用方面的教学与科研工作。E-mail: huangxx@swfu.edu.cn。

责任作者:邓莉兰(1962-), 女, 本科, 教授, 现主要从事树木学与园林植物学等方面的科研与教学工作。E-mail: lilandeng1962@yahoo.com.cn。

基金项目:国家林业局“948”资助项目(2003-4-20); 省部级重点学科、省高校重点实验室及校实验室共享平台资助项目; 西南林业大学重点基金资助项目(111032)。

收稿日期:2011-04-28

Influence of Different Presoaking Temperature and Time Pretreatment on *Dianthus superbus* Seed Germination

HUANG Jian, LIU Hong-jian, QIAN Ren-juan, ZHANG Xu-le
(Zhejiang Subtropical Crops Institution, Wenzhou, Zhejiang 325005)

Abstract: This article analyzed the influence of different water temperature and presoaking time that influenced on seeds *Dianthus superbus* germination. The results showed that the temperature of water had significant influence on germination, and the presoaking had little effect on it, 40°C water and presoaking for 90 min was more suitable for *Dianthus superbus* germination preprocessing, too high or too low presoaking water temperature had significant influence on the germination of *Dianthus superbus* seeds.

Key words: *Dianthus superbus*; seed; germination; preprocessing

果对提高山龙眼科木本植物的抗逆性有重要意义,也可作为山龙眼科这种高档木本花卉植物的栽培应用及产业化发展提供科学的参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料选择健康并生长一致的山龙眼科木本切花植物帕洛特王(*Protea cynaroides*) 1 a 生扦插苗,于2009年9月初移栽到5 L的塑料盆中,基质为红土+珍珠岩+腐殖土(1:1:2)的混合基质。从开始移栽到胁迫前,保证土壤水分充分,不会成为苗木生长的限制因子,过后进行水分处理。

1.2 试验设计

该试验共设3个处理组(良好水分组、干旱处理组、盐处理组),试验大棚内白天温度范围为20~30℃,夜间温度范围为9~18℃,相对湿度35%~80%。处理时间从2009年9月20日至11月20日,共计60 d。所有指标测定在处理结束时进行,每株选取从上到下的第3~5片完全展开的叶作为生理生化指标的测定样品,每处理5次重复。

水分处理方法:测定土壤的最大田间持水量(FC),用隔天称重法进行水分控制。良好水分组为100% FC,干旱处理组为50% FC。

盐胁迫方法:用0.1 mol/L NaCl溶液进行处理,每盆隔天浇10 mL的盐溶液,再补充水分至100% FC。

1.3 指标测定方法

1.3.1 生物量及形态指标的测定 试验结束时量取植株株高、茎径,选取生理生化指标测定的叶片样品后收获所有植株,总叶面积用便携式叶面积仪(CI-202, CID Inc, USA)测定。并将其分为叶、茎、根,生物量样品烘干(80℃, 48 h)并称重。计算根冠比(R/S, 根生物量/地上部分生物量)。

1.3.2 叶片相对含水量测定 叶相对含水量(RWC)计算如下: $RWC(\%) = (FW - DW) / (TW - DW) \times 100\%$ 。FW—鲜重, TW—饱和重(用去离子水浸泡24 h), DW—干重(80℃下烘48 h至恒重)。

1.3.3 叶片光合色素含量测定 叶绿素测定:参照 Inskeep and Bloom 的方法^[8],称取植物叶片0.2 g,剪碎后用冷的二甲基甲酰胺暗中4℃下浸提48 h,于663、646 nm下比色。计算单位叶鲜重的叶绿素a、叶绿素b含量。

1.3.4 抗氧化酶活性测定 取0.2 g材料于3 mL提取缓冲溶液(50 mM $Na_2HPO_4-NaH_2PO_4$ 缓冲液, pH 7.0)中研磨成匀浆。10 000 r/min离心20 min,取上清液进行酶活性测定。抗坏血酸过氧化物酶(APX, EC 1.11.1.11);参照 Knorze 的方法^[10]计算每分钟内每毫克蛋白转化的抗坏血酸量(摩尔消光系数为2.8 $mM^{-1} \cdot cm^{-1}$),用以表示酶活性的大小。过氧化氢酶(EC 1.11.1.6, CAT):参考 Aebi H 的方法^[11]。

根据摩尔消光系数39.4 $mM^{-1} \cdot cm^{-1}$,计算酶活性。

1.3.5 可溶性蛋白含量测定 以50 mM磷酸缓冲溶液(pH 7.8)为提取液(0.1 mM DTA, 100 μM 苯甲基磺酰氟及2%PVP(w/v))。称取0.2 g叶片,用液氮研磨,加入5 mL提取液,进一步研磨成匀浆,离心10 min,取上清液,加入G-250反应后比色,参照 Bradford 的方法^[12]。计算单位叶干重的可溶性蛋白含量。

1.3.6 可溶性糖含量测定 取0.2 g叶片样品,用1 mL蒽酮乙酸乙酯试剂和5 mL浓硫酸匀浆,暗处提取12 h,10 000 r/min离心10 min后回收上清液,残渣再提1次,与前次混匀。可溶性糖的测定采用蒽酮试剂法^[13]。计算单位叶干重的可溶性糖含量。

1.3.7 游离性脯氨酸含量 游离脯氨酸的测定采用 Bate 的方法^[14]。计算单位叶干重的脯氨酸含量。

1.4 数据统计分析

所有数据分析都采用 Spss 11.5 统计分析软件进行一元方差分析(One-way ANOVA),平均数间的多重比较采用 Duncan's 检验方法。 $P < 0.05$ 时,差异显著。

2 结果与分析

2.1 干旱与盐胁迫对叶片相对含水量的影响

从图1可看出,干旱胁迫对帕洛特王幼苗叶片相对含水量的影响不显著,说明该植物叶片组织水势受50%田间持水量的干旱影响不大;而盐胁迫显著降低了叶片相对含水量,与水分良好条件组相比,叶片相对含水量从84.46%降至43.32%。

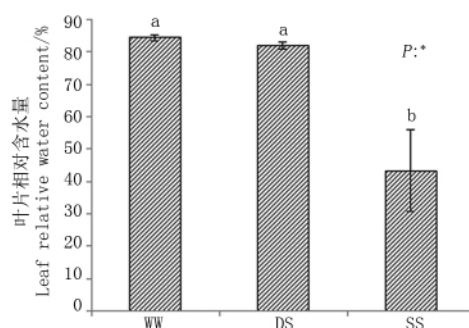


图1 干旱胁迫和盐胁迫对叶片相对含水量的影响

Fig.1 Effects of drought and salt stress on leaf relative water content

注: WW, 水分良好条件, 100% FC; DS, 干旱处理, 50% FC; SS, 0.1 mol/L NaCl 处理。不同字母表示差异显著(邓肯新复极差法), $P < 0.05$ 。每个值代表5个重复的平均值±标准误。ns, 差异不显著; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$ 。下同。

Notes: WW, well watered, 100% FC; DS, drought stress, 50% FC; SS, salt stress by 0.1 mol/L NaCl; Values followed by the same letter indicate nonsignificant differences at $P < 0.05$ (Duncan's multiple range test). Each value represents the mean \pm SE of five replicates, ns, not significant; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$. The same below.

2.2 干旱与盐胁迫对植株生物量积累的影响

从表1可看出,干旱胁迫显著增加了帕洛特王幼苗的根冠比,但干旱与盐胁迫对各部分生物量积累的影响不显著。干旱与盐胁迫对于帕洛特王幼苗形态生长影响较小,说明帕洛特王对该试验中的土壤干旱和

表 1 干旱胁迫和盐胁迫对生物量积累的影响

Table 1 Effects of drought and salt on biomass allocation

指标 Indices	处理 Treatments			
	WW	DS	SS	P
总生物量 Total biomass/g	3.97±1.00a	3.62±0.57a	3.60±0.69a	ns
叶生物量 Leaf biomass/g	2.37±0.68a	2.11±0.42a	2.11±0.51a	ns
茎生物量 Stem biomass/g	0.96±0.19a	0.72±0.06a	0.97±0.12a	ns
根生物量 Root biomass/g	0.65±0.15a	0.79±0.16a	0.52±0.10a	ns
根生物量/地上生物量 Root/shoot	0.20±0.02b	0.29±0.04a	0.17±0.02b	*

表 2 干旱胁迫和盐胁迫对叶片光合色素含量的影响

Table 2 Effects of drought and salt on photosynthetic pigments content

指标 Indices	处理 Treatments			
	WW	DS	SS	P
叶绿素 a Chlorophyll a/mg·g ⁻¹ FW	1.37±0.10 b	1.59±0.08 b	2.29±0.02 a	***
叶绿素 b Chlorophyll b/mg·g ⁻¹ FW	1.19±0.04 a	1.12±0.06 a	1.32±0.11 a	ns
叶绿素 a/叶绿素 b Chlorophyll a/Chlorophyll b	1.14±0.05 c	1.42±0.11 b	1.74±0.08 a	**

盐处理能够较好地适应。

2.3 干旱与盐胁迫对叶片光合色素含量的影响

从表 2 可看出,干旱胁迫对于叶片光合色素含量的影响不明显,叶绿素 a 含量在干旱条件下有所增加,但并不显著;盐胁迫下,叶绿素 a 的含量有显著的提高,而叶绿素 b 含量在 3 组之间的差异不大,这也说明叶绿素 b 在不同的土壤水分条件下相对稳定。

2.4 干旱与盐胁迫对叶片抗氧化酶活性及可溶性渗透调节物质的影响

表 3 干旱胁迫和盐胁迫对叶片抗氧化酶活性可溶性渗透调节物质的影响

Table 3 Effects of drought and salt on antioxidative enzyme activities and soluble osmotic adjustment substances

指标 Indices	处理 Treatments			
	WW	DS	SS	P
CAT/ $\mu\text{mol}\cdot\text{H}_2\text{O}_2\text{ mg}^{-1}\text{ protein}$	7.79±0.12b	16.40±0.58b	95.07±17.51a	**
APX/ $\mu\text{mol}\cdot\text{H}_2\text{O}_2\text{ mg}^{-1}\text{ protein}$	192.40±65.85b	635.08±37.38a	524.36±21.44a	**
可溶性蛋白 Soluble protein/mg·g ⁻¹ DW	9.76±0.14b	8.55±0.30c	11.95±0.44a	*
可溶性糖 Soluble sugar/mg·g ⁻¹ DW	4.17±0.36b	5.56±0.21b	9.67±1.08a	*
脯氨酸 Free proline/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{ DW}$	4.36±0.74b	4.31±0.42b	11.20±0.18a	***

3 讨论与结论

很多研究表明,干旱与盐胁迫可使植株生长受抑制,减小其生物量积累,使营养物质更多的朝下分配而促进地下根系的生长^[15-16]。该研究结果表明,干旱胁迫与盐胁迫对帕洛特王幼苗的生长影响不明显,但干旱胁迫使得相对较多的生物量向根部分配,根冠比显著增加,说明该植物可以通过促进地下部根系的生长来应对干旱。相比较而言,盐胁迫下根冠比的变化不明显,而叶片含水量显著下降,说明该植物无法通过调节根冠比来积极应对盐胁迫,但该处理下帕洛特王幼苗的生物量累积并无显著变化。因此该试验中,50%田间持水量的干旱处理及 0.1 mol/L NaCl 处理在短期内并不足以影响该植物的存活和生长,说明了帕洛特王幼苗具有一定的耐旱及耐盐能力。

该研究中,所测的 8 个生理生化指标中,受干旱胁迫影响显著的有 3 个,而受盐胁迫影响显著的有 7 个。在逆境条件下,当植物体内活性氧累积超过正常水平时,过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)等

从表 3 可看出,与良好水分组相比,植株在 50%田间持水量的干旱条件下,抗坏血酸过氧化物酶(APX)及过氧化氢酶(CAT)活性虽然有所提高,但并不显著。而在盐胁迫下,过氧化氢酶(CAT)活性显著增加,从对照组的 7.79 增加至 95.07,但抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性变化不大。另一方面,与良好水分组相比,干旱胁迫降低了叶片中可溶性蛋白的含量,但对可溶性糖及脯氨酸含量影响不显著;而盐胁迫显著提高了叶片中的可溶性蛋白、可溶性糖及脯氨酸 3 种渗透调节物质的含量。

抗氧化酶由于底物浓度增加而被诱导合成;酶促、非酶促保护体系共同作用清除自由基,防止膜脂过氧化,增强植物自我保护能力^[17-18]。试验结果表明,干旱对帕洛特王幼苗叶片光合色素含量影响不大,也并未刺激叶片抗氧化酶 CAT 和 APX 的活性,这可能是由于干旱程度较轻,还不足以刺激启动该植物自身抗氧化系统的保护功能,也可能是处理时间较短,并没有引起该植物过多的生理特性变化。但盐胁迫引起了叶片光合色素含量的改变,显著提高了叶绿素 a 的含量,并使得叶绿素 a/b 比值增加,这与该胁迫下植物叶片的含水量降低有关系。此外,盐胁迫下抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性也成倍增加,说明了该植物可积极地通过增加抗氧化系统的保护功能来抵御盐胁迫。有研究证明,在逆境条件下,很多植物都可以通过增加自身组织的脯氨酸、可溶性糖及其它可溶性物质的含量进行渗透调节,以维持细胞一定的含水量和膨压势,从而增强植物的抗旱能力和抗逆性^[19-20]。该研究结果表明,帕洛特王叶片中可溶性蛋白含量有所降低,而可溶性糖、脯氨酸的含量却没有显著变化,可能是由于该植物可

以通过生物量的分配调节来积极应对干旱;而试验结果中这 3 种可溶性物质在盐胁迫下却显著增加,也说明了该物种生理生化特性受到盐处理的影响比干旱处理的影响更大,同时可以通过自身渗透调节物质的累积及抗氧化酶活性的提高来抵抗盐胁迫。从形态指标及生理生化指标可以看出,帕洛特王对干旱及盐胁迫的抵抗方式有所区别。

通过对帕洛特王 1 a 生扦插苗进行为期 2 个月的干旱及盐处理试验,比较分析其形态生长及生理生化特性的变化,主要得出以下结论:50%田间持水量的干旱处理对帕洛特王的影响不大,不管是形态生长指标还是生理生化指标,受到干旱胁迫的不良影响较小,并且该植物可以通过增加根冠比来积极地适应干旱,以保持其生长不受影响;而盐处理下,该植物叶片相对含水量显著下降,但同时也发生了一系列的生理生化响应,如增加抗氧化酶活性及可溶性渗透调节物质的积累,这些变化能提高植物在盐胁迫下的存活和生长能力。总之,在该研究中,干旱处理及盐处理对植株生长及总生物量积累的影响较小,说明帕洛特王对于土壤干旱及盐分具有一定的耐受性。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 第 1 卷. 北京:科学出版社,1999:367.
- [2] Wasson E, Rodd T. 世界园林乔灌木[M]. 北京:中国林业出版社,2004:302-322.
- [3] 范贤熙,胡秀,王奇,等. 木本切花植物极美泰洛泊的组织培养研究[J]. 西部林业科学,2006(2):7-9.
- [4] 王奇,胡秀,范贤熙,等. 多花白澳山龙眼组织培养研究[J]. 江西农业大学学报,2006,28:665-668.
- [5] 卢红珍,段晓梅,樊国盛. 山龙眼科木本切花市场现状与生产前景分析[J]. 福建林业科技,2007,34:243-246.
- [6] 曾力,段晓梅,樊国盛. 3 种山龙眼科植物种子生活力快速测定方法的效果比较[J]. 西部林业科学,2007,36:119-122.
- [7] 罗昌国,邓莉兰. 不同处理对山龙眼花卉红花卢卡树种子的发芽影响[J]. 种子,2009(1):15-17.
- [8] Inskeep W P, Bloom P R. Extinction coefficients of chlorophyll a and b in N,N-Dimethylformamide and 80% acetone[J]. Plant Physiology,1985,77:483-485.
- [9] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenol oxidase in Beta vulgaris[J]. Plant Physiology,1949,24:1-15.
- [10] Knorzer O C, Durner J, Boger P. Alterations in the antioxidative system of suspension-cultured soybean (*Glycine max*) cells induced by oxidative stress[J]. Physiologia Plantarum,1996,97:388-396.
- [11] Aebi H. Catalase *in vitro* [J]. Method in Enzymology,1984,105:121-126.
- [12] Bradford K J, Sharkey T D, Farquhar G D. Gas exchange, stomatal behavior, and $\delta^{13}C$ values of the flacca tomato mutant in relation to abscisic acid[J]. Plant Physiology,1983,72:245-250.
- [13] Renaut J, Lutts S, Hoffmann L, et al. Responses of poplar to chilling temperatures: Proteomic and physiological aspects[J]. Plant Biology,2004,6:81-90.
- [14] Bates C J, Waldren R P, Teare I D. Rapid determination of free proline for water-stress studies[J]. Plant Soil,1973,39:205-207.
- [15] Hsiao J. Plant response to water stress[J]. Annual Review of Plant Physiology,1973,24:519-570.
- [16] Kozłowski T, Pallardy S. Acclimation and adaptive responses of woody plants to environmental stresses[J]. Botanical Review,2002,68:270-334.
- [17] Schwanz P, Picon C, Vivin P, et al. Systems to drought stress in pendunculate oak and maritime pine as modulated by elevated CO₂ [J]. Plant Physiology,1996,110:393-402.
- [18] Kronfub G, Polle A, Tausz M, et al. Effects of ozone and mild drought stress on gas exchange, antioxidants and chloroplast pigments in current-year needles of young Norway spruce (*Picea abies* L., Karst.) [J]. Trees,1998,12:482-489.
- [19] Ramanjulu S, Bartels D. Drought and desiccation-induced modulation of gene expression in plants[J]. Plant Cell and Environment,2002,25:141-151.
- [20] Hare P D, Cress W A, Van Staden J. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress[J]. Plant Cell and Environment,1998,21:535-553.

Growth and Physiological Traits of *Protea cynaroides* Cuttings as Affected by Soil Drought and Salt Stress

HUANG Xiao-xia, HU Shao-bo, DENG Li-lan

(College of Landscape Architecture, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224)

Abstract: In this study, the one-year old cuttings of *Protea cynaroides*, a kind of woody cut flowers plant, were selected as experiment materials, the growth and physiological responses of cuttings to drought and salt were studied, which could expecting to provide scientific guidance for spreading of proteace plants. The results showed that the effects of drought and salt on growth and biomass allocation were not significant in *Protea cynaroides* cuttings. Under drought condition, the ratio of root biomass to shoot biomass was significantly increased, indicating this plant could remain its normal growth by adjusting the nutrition distribution between the aboveground and underground biomass when faced to drought. On the other hand, salt stress significantly decreased the leaf relative water content, increased chlorophyll a content, and also improved the antioxidative enzyme activities and the accumulations of osmotic adjustment substances. All these suggested *Protea cynaroides* could resisted salt stress actively by physiological and biochemical responses. In conclusion, the negative effects of these two stresses were not evident, suggesting the cuttings of *Protea cynaroides* were tolerant to soil drought and salt.

Key words: *Protea cynaroides*; drought stress; salt stress; morphology and growth; physiology and biochemistry