

DOI:10.11937/bfyy.201514018

自然干旱胁迫对米槁幼苗叶片 显微结构及叶绿素含量的影响

文爱华, 刘济明, 高攀, 李丽霞, 王军才, 骆畅

(贵州大学 林学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要:以一年生米槁为试材,在为期 22 d 的自然失水胁迫处理下,研究了米槁生长形态、叶形态解剖结构以及光合色素在不同胁迫时间下的变化特点,以期探讨米槁幼苗对持续干旱胁迫的适应能力及对策。结果表明:随着胁迫时间的增加,其生长指标受显著抑制;叶绿素 a、b 含量呈先降低后升高再降低的趋势,但叶绿素 a/b 的趋势相反,类胡萝卜素含量先下降后上升;叶片厚度、上表皮细胞厚度、叶脉周长和面积呈先下降后上升趋势;海绵组织厚度呈上升的趋势,栅栏组织厚度和叶片组织结构紧密度(CTR)呈先下降后上升的趋势。表明米槁在干旱胁迫时可以通过改变叶片内组织结构来提高其抗旱性。

关键词:米槁;干旱胁迫;叶形态结构;显微结构

中图分类号:S 567.239 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)14-0062-05

干旱对植物体的影响主要是植物的生长发育^[1-2],而在植物生长发育过程中叶片是对环境变化比较敏感和可塑性较大的器官^[3],环境的改变势必会导致其形态

结构的变化。而叶片结构的稳定则直接影响着植物生理生化功能发挥^[4]。土壤有效水分的匮乏会对植物生长状况、形态结构与生理生态过程产生显著影响^[5-8],因此,土壤水分状况与植物之间的关系一直是植物生理生态学研究领域的热点问题之一。大多数植物在短期或轻度土壤缺水下叶片水势下降,引起气孔关闭,限制了 CO₂ 摄取及光合作用速率;长期而严重的干旱胁迫可限制植物生长,引起形态结构及生物量分配格局发生变化,甚至会导致植物死亡^[9-11]。因此,从生长、形态、解剖结构及生理特征等多方面开展系统地研究,是把

第一作者简介:文爱华(1989-),女,山东济南人,硕士研究生,研究方向为野生动植物保护与利用。E-mail:wah0917@163.com.

责任作者:刘济明(1963-),男,重庆人,博士,教授,现主要从事植物生态学等研究工作。E-mail:karst0623@163.com.

基金项目:贵州省林业厅重大资助项目(黔林科合[2010]重大 04 号);黔南州社会发展科技计划资助项目。

收稿日期:2015-01-19

germination rates between the treatment groups were significant ($P < 0.01$), and a significant negative correlation between the germination rates and the active nutrient concentrations was found. The germination rates showed a decrease with the increasing nutrient concentrations. The high concentration of active nutrients inhibited the germination of *Paspalum notatum* Flugge. The active nutrient had an influence on plant height, and the difference between the treatment groups were significantly ($P < 0.01$). The average height of group C6(150%) was 23.20 cm which was the maximum, the average height of group CK (0%) was 16.30 cm which was the smallest at 300 days. The average biomass of group C6 was maximum, the average biomass of group CK was the smallest at 300 days. There were significant differences between the treatment group ($P < 0.01$). The high concentrations of active nutrients had no significant effect on plant biomass accumulation. The nutrient use efficiency trends of N, P and K were that the nutrient use efficiency had decreased with the increasing active nutrient concentrations, there was a significant negative correlation between the nutrient use efficiency and activity nutrient content. All in all, the biomass of group C6 was the maximum, and the nutrient use efficiency was higher, which meet the requirements of ecological reconstruction. These results suggested that, group C6 was the best choice in the ecological engineering when *Paspalum notatum* Flugge was applied.

Keywords: *Paspalum notatum* Flugge; active nutrient; soil and water conservation; nutrient use efficiency

握植物对不同强度干旱胁迫响应与适应的重要切入点。

米槁(*Cinnamomum migao* H. W. Li)属樟科樟属高大乔木常绿植物,又名大果木姜子。米槁是贵州苗族民间常用药物,其名字来源于苗语,异名有米槁(贵州黔南)、麻槁(云南富宁)、大果樟(广西天峨)等^[12]。据《重庆草药》^[13]记载:“米槁有逐寒、镇痛、健脾、消饱胀、治心胃冷气痛等功效”。常用于治疗腹胀、腹痛、晕车呕吐及牛马腹胀等人畜疾病。目前对米槁的研究主要集中于化学成分的分离与鉴定^[14-17],而有关干旱胁迫对米槁形态、显微结构的影响方面的研究尚鲜见文献报道。为此,现以贵州罗甸县的米槁幼苗为研究对象,采用盆栽控水的方法对米槁的耐旱潜力进行研究,以期阐明不同强度干旱胁迫下幼苗生长、叶片解剖结构、光合色素等的变化特点,探讨幼苗的干旱适应能力及适应对策。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用贵州罗甸米槁幼苗带回贵州大学林学院苗圃,采用盆栽方式种植,盆口直径为 29 cm,深度 40 cm,盆栽土壤一致。

1.2 试验方法

于 2014 年 7 月将长势一致、无病虫害的 30 盆幼苗移入隔绝降水的透明大棚,浇透水后采用自然干旱的方法进行干旱胁迫。从第 1 天开始,选择长势一致的幼苗进行株高、基径的测量,每个处理 3 次重复,设置停水 0、7、12、17、22 d 胁迫处理和复水 15 d 后进行叶绿素指标的测定。

1.3 项目测定

每次试验前,取每株幼苗中上部成熟叶片,进行石蜡切片的制作。将备用叶片用清水冲洗干净,滤纸吸干后放入 70% 的 FAA 固定液内固定。将固定的叶片材料选取叶片中部切取 0.5 cm 长宽的小块,按洗涤→脱水与硬化→脱酒精→埋蜡→切片与粘片→脱蜡→染色→封片的流程进行处理备用。用生物显微镜进行叶片形态观察,并采用 JIF-EITECH 图像软件进行拍照和叶片形态测量。测量指标包括叶脉周长、叶脉面积、叶片厚度、上表皮细胞厚度、海绵组织厚度和栅栏组织厚度等结构参数。计算细胞结构紧密度(CTR)^[18]。CTR=(栅栏组织厚度/叶片厚度)×100%。取幼苗植株中上部完全展开的新鲜叶,在低温、避光条件下带回实验室,进行叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素含量的测定^[19]。

1.4 数据分析

试验数据采用 SPSS 19.0 软件进行显著性分析,图表处理采用 Excel 2003 软件。

2 结果与分析

2.1 不同干旱胁迫时间米槁幼苗生长特点

从表 1 不同干旱胁迫时间米槁幼苗生长参数及其变化特点可以看出,随着干旱胁迫时间的增加,土壤含水量显著下降,但基径和株高增长缓慢,当胁迫第 7~12 天时,基径无显著变化,可能是土壤水分限制了基径的增加;随着时间增加,株高呈缓慢增长趋势,复水后,株高与胁迫期间有显著差异。表明随着干旱胁迫强度的增加,基径和株高开始会有极缓慢的增长,达到一定强度后几乎无变化。

表 1 不同干旱胁迫时间米槁幼苗生长特点

Table 1 Growth characteristics of *Cinnamomum migao* H. W. Li seedlings of different drought stress time

胁迫时间 Treatment time	土壤含水量 Soil water content	基径 Basal diameter	株高 Plant height
/d	/%	/cm	/cm
0	38.42±3.801d	0.79±0.024a	60.40±2.862a
7	20.57±2.220c	0.84±0.039ab	61.84±1.837ab
12	9.89±0.874b	0.87±0.063ab	64.47±1.193bc
17	6.92±0.502ab	0.93±0.061bc	65.29±0.858cd
22	4.58±0.114a	1.03±0.106c	67.40±0.889d
复水 15	38.50±2.530d	1.15±0.138d	70.33±0.379e

注:同一列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Different lowercase letters in the same column show significant difference at 0.05 level. The same below.

2.2 米槁幼苗

米槁叶为异面叶,叶肉明显分化为近上表面的栅栏组织(P)与近下表皮面的海绵组织(S)2 部分,其中栅栏组织细胞 1 层,细胞呈长柱状排列紧密;而海绵组织细胞 2~3 层,形状不规则,细胞间隙较大,内有维管束分布,呈不规则半圆形,厚壁组织较发达。上下表皮各有一层细胞,排列紧密、间隙较小(图 1)。

2.3 不同干旱胁迫时间米槁幼苗叶片显微结构

试验观察,米槁幼苗叶脉内只有一个维管束,维管束主要是运输植物体内养分和水分,一般而言,维管束越大,数目越多,养分供应越好,有利于叶片的生长和光合速率的提高^[20-22]。由表 2 可知,叶脉周长和叶脉面积随着胁迫时间的延长呈现先下降后上升的趋势,当胁迫 7 d 时达到了最小值;复水后,数值有所下降但较高于未胁迫前。

植物叶片的栅栏组织厚度和结构紧密度是植物抗性的指标之一^[23-24],研究表明,叶片细胞结构紧密度越大,植物耐旱性越强^[25]。从表 2 还可以看出,栅栏组织厚度和结构紧密度(CTR)呈先下降后上升趋势,胁迫 12 d 时出现最小值。叶片 CTR 值大,叶片细胞变小可减少因干旱导致细胞收缩产生的机械损伤^[26];而海绵组织厚度随胁迫时间呈上升趋势,在胁迫 12~17 d 时无

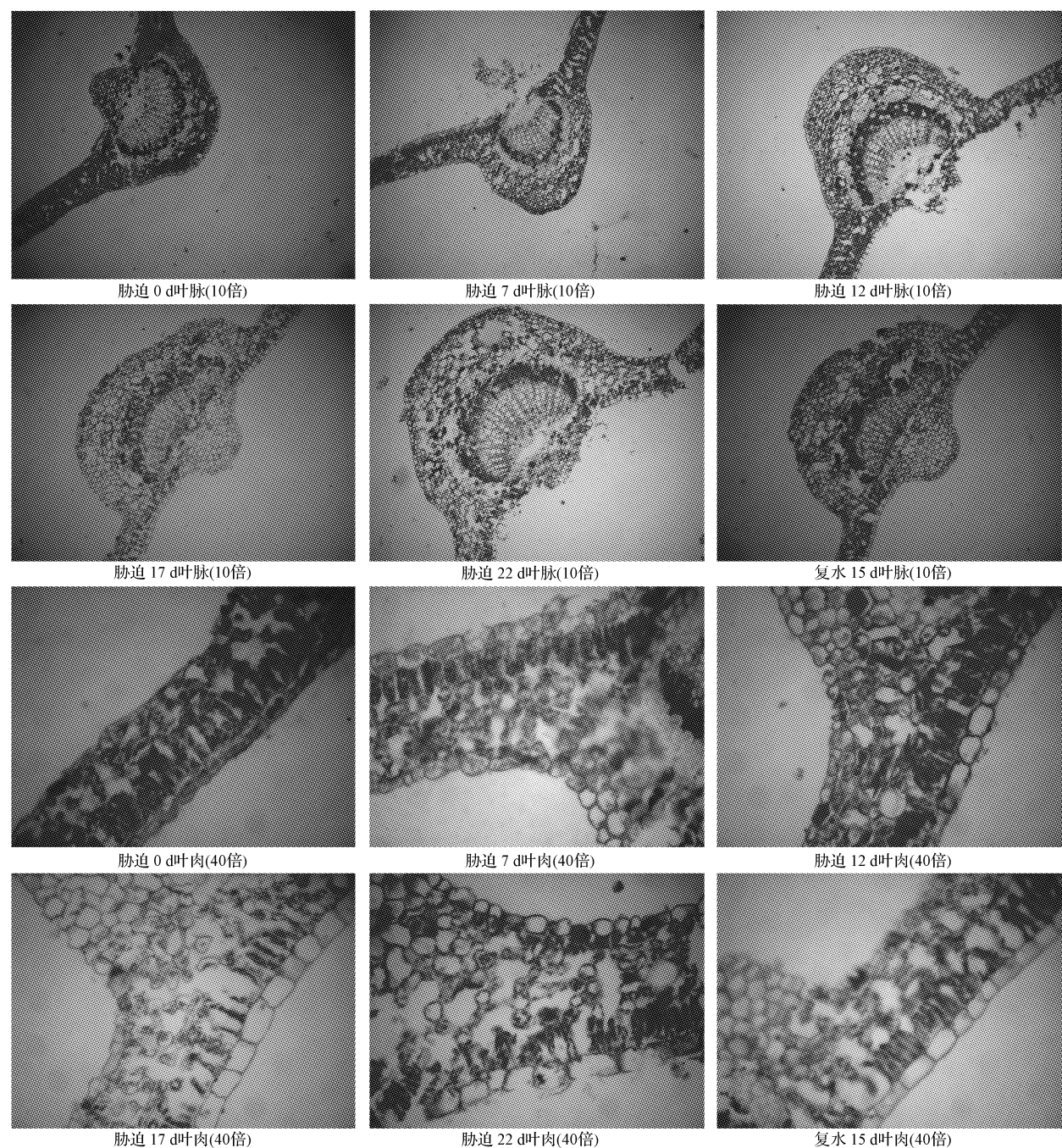


图 1 自然干旱胁迫对米槁幼苗叶片显微结构的影响

Fig. 1 The influence of natural stress on microstructure of *Cinnamomum migao* H. W. Li seedling

表 2 自然干旱胁迫对米槁幼苗叶片解剖参数的影响

Table 2 The influence of natural drought stress on anatomical parameters of *Cinnamomum migao* H. W. Li seedling

胁迫时间 Treatment time /d	上表皮细胞厚度 Epidermis thickness /μm	栅栏组织厚度 Fence organization thickness /μm	海绵组织厚度 Spongy tissue thickness /μm	细胞结构紧密度 Cell structure tightness	叶脉周长 Vein circumference /μm	叶脉面积 Vein area /μm ²	叶片厚度 Leaf thickness /μm
0	22.48±0.585b	41.25±1.046b	58.75±1.650ab	0.27±0.008c	304.90±2.821b	6 507.40±184.671b	153.59±0.521d
7	19.14±0.631a	36.88±0.660a	74.32±1.673b	0.25±0.005b	256.28±3.723a	4 698.01±326.380a	145.12±0.607b
12	23.29±1.342bc	35.36±0.802a	79.43±1.807c	0.24±0.003a	365.56±6.393c	8 606.03±179.492c	148.34±1.304c
17	25.11±0.981c	39.60±0.234b	79.08±2.830c	0.27±0.005c	410.44±2.431d	8 920.44±84.411c	147.00±0.522c
22	25.13±0.747c	50.93±1.621d	92.04±1.368d	0.28±0.001b	448.42±5.595e	14 078.73±164.464d	180.86±1.344e
复水 15	23.76±2.170bc	45.05±0.826c	49.79±2.593a	0.32±0.011d	413.78±5.248d	9 255.57±748.343c	141.23±0.542a

显著变化。胁迫期间,叶片和上表皮的厚度呈现相似趋势,即先下降后上升,但胁迫 17 d 时,叶片厚度出现了下降,但在 12~17 d 时无显著差异。胁迫 7 d 时二者达到了最小值,胁迫 17~22 d 时,上表皮厚度无显著差异。复水后的叶片厚度和上表皮厚度均比未胁迫显著提高。

2.4 不同干旱胁迫时间米槁幼苗叶片光合色素含量变化

从表 3 可以看出,光合色素参与光合作用过程中光能的吸收、传递和转化,其含量直接影响植株的光合能力^[27]。米槁幼苗叶片中叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素 a+b 的含量在干旱胁迫时间上表现出相似的变化特点,均随着干旱胁迫加强呈先下降后上升再下降的趋势,复

表 3 自然干旱胁迫对米槁幼苗叶片光合色素含量的影响

胁迫时间 Treatment time/d	叶绿素 a 含量 Chlorophyll a content/(mg·g ⁻¹)	叶绿素 b 含量 Chlorophyll b content/(mg·g ⁻¹)	叶绿素 a/b Chlorophyll a/b	叶绿素 a+b 含量 Chlorophyll(a+b) content/(mg·g ⁻¹)	类胡萝卜素含量 Carotenoid content/(mg·g ⁻¹)
0	0.59±0.018c	0.17±0.028b	3.53±0.651c	0.76±0.030c	0.26±0.016e
7	0.32±0.015a	0.08±0.010a	3.91±0.394c	0.41±0.022a	0.17±0.004c
12	0.64±0.004d	0.36±0.001d	1.80±0.013ab	1.00±0.004d	0.11±0.002a
17	0.78±0.007e	0.40±0.006e	1.93±0.043ab	1.18±0.005e	0.17±0.003c
22	0.47±0.005b	0.24±0.017c	1.98±0.167b	0.71±0.011b	0.23±0.009d
复水 15	0.97±0.016f	0.71±0.013f	1.36±0.046a	1.68±0.004f	0.14±0.004b

3 结论与讨论

干旱对植物的影响是多方面、多层次的,除外部形态外,也会影响其内部结构,干旱胁迫发生时,植物叶片内部结构发生一系列变化来适应不利的环境。该研究表明,随着胁迫时间的延长,基径和株高有显著差异,在胁迫 7~12 d 时,基径无显著差异,说明此时的土壤水分已影响到了植株的正常细胞生长与分裂,使茎不能增粗;复水后,显著高于胁迫前。

叶肉是叶片进行光合作用的主要场所,叶肉组织厚度的变化对植物生长及水分利用有较大的影响,并且干旱胁迫下叶肉细胞大小改变是叶肉厚度发生变化的主要原因。前人研究认为高度发达的栅栏组织可以避免干旱地区强烈光照对叶肉细胞的灼伤,又可以有效的利用衍射光进行光合作用,即栅栏组织越厚、栅栏组织与叶厚的比值越大,栅栏组织细胞越小且排列越紧密,则植物利用光能的效率越高,抗旱性越强^[25,28]。该研究中,栅栏组织厚度、CTR 随着胁迫时间延长而呈先下降后上升趋势,叶片栅栏细胞长度不同程度纵向伸长,排列趋于紧密,这可能有利于减少水分蒸腾,提高光合效率;胁迫 22 d 时达到了最高值说明米槁幼苗叶片结构能够较好的适应干旱环境。复水后,栅栏组织有所增加。海绵组织厚度随胁迫时间呈上升趋势,胁迫 22 d 时达到最大值,这与王顺才等^[29]的研究结果相似。

叶片厚度主要有栅栏组织和海绵组织构成,因此,由

水后叶绿素含量均显著高于胁迫前;而类胡萝卜素含量的变化趋势为先下降后上升,复水后含量低于未胁迫前。叶绿素 a 含量和叶绿素 b 含量都在胁迫 7 d 时达到最小值,胁迫 17 d 时达到了最大值,显著高于未胁迫前;类胡萝卜素含量峰值则出现在胁迫 22 d 时,低于未胁迫前。叶绿素 a+b 含量在胁迫 17 d 达到最高值,变化趋势与叶绿素 a、b 含量一致,可见胁迫 17 d 的土壤含水量是米槁叶片叶绿素含量的阈值,即开始下降的拐点。叶绿素 a/b 的比值反映植物对光能利用得多少,由表 3 可知,随着胁迫时间的延长,叶绿素 a/b 呈现先上升后下降再上升的趋势,复水后叶绿素 a/b 显著低于未胁迫前;胁迫 12 d 时达到最小值,但与胁迫 17 d 无显著差异。

于叶肉厚度先下降后上升,所以导致其叶厚有相似趋势。表皮是保护叶片免受外界破坏的基本结构,上表皮随着胁迫时间呈先下降后上升,在胁迫 7 d 时有最小值,表明细胞开始受水分影响,随后增加可能是为降低蒸腾作用,减少水分散失,以此来抵御干旱胁迫对细胞组织的伤害。

叶绿素主要包括叶绿素 a 和叶绿素 b,是光合作用中最重要和最有效的色素,其含量在一定程度上能够反映植物同化物质的能力,从而影响植物的生长^[27]。该研究中,叶绿素含量随着胁迫时间的增加表现为先下降后上升再下降的趋势,造成胁迫下叶绿素含量下降的原因可能与质膜透性、膜质过氧化物 MDA、叶绿素分解加快有关^[30]。胁迫 12~17 d 时,含量上升的原因可能是由于土壤干旱,造成叶片失水,叶绿素的浓度相应增加导致。随后下降的原因可能是叶绿素分解量大于叶绿素浓度的相应增加量。这与李叶峰等^[31]的研究相似。复水后,叶绿素含量高于胁迫前,这说明随着干旱胁迫时间的延长,米槁通过提高叶绿素含量保证对光能的充分利用,提高转化率以保证碳同化,从而增强了幼苗的净光合速率,这种生理反应,是植物抗旱能力的表现。

植物为了适应一定的水分胁迫,通常叶片的形态特征会发生改变,如适当减少叶面积来降低植物叶片的蒸腾速率,叶肉细胞结构中栅栏细胞长度纵向伸长、排列趋向紧密以增加叶片对光能的捕获机会,从而来适应胁迫环境。然而,植物的抗旱性还受诸多因素的影响,如

树龄、土壤中盐的成分和气候因子等,自然条件下米槁幼苗的抗旱性还需进一步验证与研究。

参考文献

- [1] MAHAJAN S, TUTTIEJA N. Cold, salinity and drought stresses: An overview[J]. Archives of Biochem Biophys, 2005, 444: 139-158.
- [2] 董占元, 姚云峰, 赵金仁, 等. 梭梭光合枝细胞组织学观察及其抗逆性特征[J]. 干旱区资源与环境, 2000(14): 78-83.
- [3] 王勋陵, 王静. 植物的形态结构与环境[M]. 兰州: 兰州大学出版社, 1989: 105-138.
- [4] 王森, 代力民, 姬兰柱, 等. 长白山阔叶红松林主要树种对干旱胁迫的生态反应及生物量分配的初步研究[J]. 应用生态学报, 2001, 12(4): 496-500.
- [5] BOSABALIDIS A M, KOFIDIS G. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars[J]. Plant Science, 2002, 163: 375-379.
- [6] 王云龙, 许振株, 周广胜. 水分胁迫对羊草光合产物分配及气体交换特征的影响[J]. 植物生态学报, 2004(28): 803-809.
- [7] YIN C Y, WANG X, DUAN B L, et al. Early growth, dry matter allocation and water use efficiency of two sympatric *Populus* species as affected by water stress[J]. Environmental and Experimental Botany, 2004, 53: 315-322.
- [8] WU F Z, BAO W K, LI F L, et al. Effects of drought stress and N supply on the growth, biomass partitioning and water-use efficiency of *Sophora davidii* seedlings[J]. Environmental and Experimental Botany, 2008, 63: 248-255.
- [9] OGBONNAYA C I, NWALOEZIE M C, ROY-MACAULEY H, et al. Growth and water relations of Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) under water deficit on a sandy soil[J]. Industrial Crops and Products, 1998, 8: 65-76.
- [10] 韦莉莉, 张小全, 侯振宏, 等. 杉木苗木光合作用及其产物分配对水分胁迫的响应[J]. 植物生态学报, 2005, 29(3): 394-402.
- [11] DIAS P C, ARAUJO W L, MORAES G A B K, et al. Morphological and physiological responses of two coffee progenies to soil water availability[J]. Journal of Plant Physiology, 2007, 164(12): 1639-1647.
- [12] 邱德文, 杜茂端. 贵州苗药大果木姜子研究及产业化[C]//贵州省自然科学优秀学术论文, 2005: 470-474.
- [13] 冉光德. 中华药海[M]. 哈尔滨: 哈尔滨出版社, 1993: 456-458.
- [14] 梁光义, 魏慧芬. 大果木姜子挥发油和脂肪油的研究[J]. 贵阳中医学院学报, 1989, 5(4): 55.
- [15] 梁光义, 邱德文, 魏慧芬, 等. 大果木姜子精油化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发, 1992, 4(2): 68.
- [16] 梁光义, 邱德文, 魏慧芬, 等. 大果木姜子的甘油三酯组成[J]. 天然产物研究与开发, 1992, 4(4): 19-22.
- [17] 魏慧芬, 任永全, 贺祝英, 等. 大果木姜子精油无机元素的研究[J]. 微量元素与健康研究, 1995, 12(4): 38.
- [18] 吴林, 刘海广, 刘雅娟, 等. 越橘叶片组织结构及其与抗寒性的关系[J]. 吉林农业大学学报, 2005, 27(1): 48-50.
- [19] 张立军, 樊金娟. 植物生理学实验教程[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2007: 36-39.
- [20] 库尔萨诺夫. 植物体内同化物的运输[M]. 韩锦峰, 译. 北京: 科学出版社, 1986: 324-326.
- [21] 徐是雄, 徐雪宾. 稻的形态与解剖[M]. 北京: 农业出版社, 1984: 102-105.
- [22] 杨艳华, 王才林. 不同水稻品种叶片显微结构和超微结构的比较研究[J]. 植物研究, 2010, 30(2): 152-156.
- [23] FAHN A, CUTLER D F. Xerophytes. Encyclopedia of Plant Anatomy, Vol. XIII[M]. Born traeger, Berlin, Stuttgart, 1992: 180.
- [24] SHIELDS L M. Leaf xeromorphy as related to physiological and structural influences[J]. Botanical Review, 1950, 16: 399-447.
- [25] 李晓燕, 李连国, 刘志华, 等. 葡萄叶片组织结构与抗旱性关系的研究[J]. 内蒙古农牧学院学报, 1994, 15(3): 30-32.
- [26] 孟庆杰, 王光全, 董绍锋, 等. 桃叶片组织解剖结构特征与其抗旱性关系的研究[J]. 干旱地区农业研究, 2004, 22(3): 123-126.
- [27] 姜卫兵, 高光林, 俞开锦, 等. 水分胁迫对果树光合作用及同化代谢的影响研究进展[J]. 果树学报, 2002, 19(6): 416-420.
- [28] 曹娟云, 欧阳永日. 干旱胁迫下枣树叶片解剖学结构变化研究[J]. 江苏农业科学, 2008(3): 161-162.
- [29] 王顺才, 邹养军, 马锋旺. 干旱胁迫对 3 种苹果属植物叶片解剖结构、微形态特征及叶绿体超微结构的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2014, 32(3): 15-23.
- [30] PRAKASH M, RAMACHANDRAN K. Effects of moisture stress and anti transpirants on leaf chlorophyll[J]. Journal of Agronomy and Crop Science, 2000, 184(3): 153-156.
- [31] 李叶峰, 王宁, 王采晨, 等. 盆栽勋章菊对自然干旱胁迫的生理响应研究[J]. 北方园艺, 2011(2): 85-88.

Effect of Natural Drought Stress on Microstructure and Chlorophyll Content of *Cinnamomum migao* H. W. Li Seedlings

WEN Aihua, LIU Jiming, GAO Pan, LI Lixia, WANG Juncai, LUO Chang
(College of Forestry, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025)

Abstract: Taking the annual *Cinnamomum migao* H. W. Li as material, in a period of 22 days natural drought stress treatment, the effect of different stress time on growth, leaf anatomical characteristics and photosynthetic pigment contents of *Cinnamomum migao* H. W. Li were studied, in order to assess the ability and countermeasure of tolerating drought in the species. The results showed that with increasing stress time, their growth targets was significantly inhibited; Chl a and Chl b increased after the first decreased and then decreased, Chl a/b opposited and Car first declined then increased; leaf thickness, the thickness of the skin, veins perimeter and area decreased at first and then increased; spongy tissue upward, and palisade tissue and CTR decreased at first and then increased. The study showed that *Cinnamomum migao* H. W. Li during drought stress could improve its drought resistance by changing the organizational structure of the blade.

Keywords: *Cinnamomum migao* H. W. Li; drought stress; morph-anatomical traits; micro-structure