

苏打盐碱胁迫对甜高粱叶片结构及抗性指标的影响

戴凌燕^{1,2}, 张立军^{1*}, 阮燕晔¹, 樊金娟¹, 胡 凯¹

(1.沈阳农业大学生物科学技术学院, 沈阳 110866; 2.黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院, 黑龙江 大庆 163319)

摘 要: 为确定以 Na_2CO_3 和 NaHCO_3 为主要成分的苏打盐碱胁迫对甜高粱叶片结构及抗性影响, 研究了盐碱胁迫下甜高粱品种 314B 和 M-81E 叶片结构与幼苗生理指标的变化。结果表明: 针对对应试的两个甜高粱品种, 苏打盐碱胁迫可极显著减小叶片厚度、中脉厚度和最大导管直径, 极显著增加叶片上下角质层及下表皮厚度 ($P<0.01$)。增加叶绿体中淀粉粒和嗜银滴颗粒数, 且发生叶绿体被膜和基质分离现象; 使线粒体内膜上嵴数量减少, 甚至消失。株高和茎基周长均比对照极显著减小, 叶绿体色素极显著增加 ($P<0.01$); 叶片质膜相对透性和脯氨酸含量极显著升高, 品种间丙二醛含量的变化差异较大。过氧化物酶(POD)活性和过氧化氢酶(CAT)活性均极显著升高, 超氧化物歧化酶(SOD)的活性极显著降低 ($P<0.01$)。比较叶片结构和抗性生理指标变化可知, 品种 M-81E 比 314B 抗盐碱性强。

关键词: 甜高粱; 盐碱胁迫; 叶片结构; 抗性指标

中图分类号: Q945.78 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2012)03-0468-08

Effects of Saline-sodic Stress on the Blade Structure and Resistant Indexes in Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench)

DAI Ling-yan^{1,2}, ZHANG Li-jun^{1*}, RUAN Yan-ye¹, FAN Jin-juan¹, HU Kai¹

(1.College of Biology Science and Technology, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China; 2.College of Life Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

Abstract: *Sorghum* (*Sorghum bicolor* L. Moench) crop has been considered relatively more salt tolerant than other cereals and has the potential as a grain and fodder crop in saline and alkaline soils. However, only a few of the cultivars can thrive under high levels of salinity. Genetic improvement of *Sorghum bicolor* for salt tolerance is of importance due to limited arable land and increasing salinity coupled with population pressure. The objective of this study was to investigate the effect of saline-sodic stress (mainly composed of Na_2CO_3 and NaHCO_3) on the blade structure and evaluate the salinity tolerance of two selected sorghum cultivars (314B and M-81E). The results showed that the leaf thickness, midrib thickness and bigger vessels diameter of the two sweet sorghum seedlings were significantly decreased under saline-sodic stress, while the upper epidermis thickness, lower epidermis thickness, upper stratum corneum thickness and lower stratum corneum thickness were significantly increased compared with the control group ($P<0.01$). Results further indicated that starch grain and osmophilic globule number in chloroplast were significantly increased ($P<0.01$), and the matrix was separated from the chloroplast envelope. In the mitochondria, the number of ridge in the inner coat appeared to decrease and even disappear. The plant height and stem base perimeter were reduced dramatically, whereas the chloroplast pigment was signally increased ($P<0.01$). The relative permeability in leaf plasmalemma and the content of proline was increased ($P<0.01$), and the content of MDA was different between 314B and M-81E. The activity of POD and CAT was significantly increased and SOD was decreased ($P<0.01$), under salt-affected soil conditions compared with control. Based on above data, it was concluded that the M-81E is much resistant to saline-sodic stress than 314B. In conclusion, sweet sorghum tolerates saline-sodic stress through the changes of the leaf structure and the physiological substances and the resistance is varied among different varieties.

Keywords: sweet sorghum; saline-sodic stress; blade structure; resistant indexes

收稿日期: 2011-08-09

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31011194); 教育部博士点基金项目(200801570005); 国家自然科学基金面上项目(30870190)

作者简介: 戴凌燕(1977—), 女, 湖南衡阳人, 在读博士, 讲师, 从事植物生理教学与科研工作。E-mail: dalinyan770416@126.com

* 通讯作者: 张立军 E-mail: Lijunzhang8@yahoo.com.cn

土壤盐渍化是当今世界旱地农业面临的重要生态环境问题之一,已成为阻碍作物高产的一个主要因素^[1-2],其中以 Na_2CO_3 和 NaHCO_3 为主要盐碱成分的内陆苏打盐碱土,pH 值高,土壤理化性状尤为不良^[3],对植物的危害尤为严重。由于 Na_2CO_3 和 NaHCO_3 的解离,土壤中的交换性 Na 含量(ESP)高,植物在这类土壤中的生长不仅受 Na^+ 的毒害作用,同时也受低水势和高 pH 胁迫,因此,适于在这类土壤上种植的作物种类和品种非常有限。开展适于苏打盐碱土壤种植作物的研究,具有重要的生态和经济意义。甜高粱 [*Sorghum bicolor* (Linn.) Moench] 属 C4 植物,生物产量高,籽粒可食用和饲用;茎秆含糖量高,可制取乙醇。此外,甜高粱具有抗旱、耐涝、耐盐碱、耐瘠薄、耐高温和耐干热风等特点^[4],可在高温、低洼和盐碱等边际性土地上进行种植,是适于苏打盐碱土种植的首选作物。

目前针对甜高粱耐盐碱性的研究主要集中在对中性盐(如 NaCl)胁迫的响应上^[5-8],而对碱性盐胁迫研究较少。研究表明,盐碱胁迫可改变灰绿藜和燕麦的叶片解剖结构、叶绿体和线粒体超微结构^[9-10],并影响质膜透性、膜脂过氧化及抗氧化酶系统^[11-12]。为此,本文在对 18 个甜高粱品种进行抗盐碱性筛选的基础上,选取 2 个抗性显著差异的品种为材料,测定苏打盐碱胁迫对甜高粱苗期叶片显微结构、叶绿体和线粒体超微结构及各种抗逆性指标的影响,旨在为阐明甜高粱苗期对苏打盐碱胁迫的响应机制,以及指导抗苏打盐碱胁迫的甜高粱种质筛选和为品种培育提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料培养及处理

1.1.1 材料

试验品种为甜高粱 314B 和 M-81E。分别由黑龙江省农科院育种所和河北省农林科学院谷子研究所惠赠。本实验室前期工作表明不同品种甜高粱苗期均对苏打盐碱胁迫具有一定耐性,但品种间存在差异。在预实验的 18 个品种中,314B 耐性最差,M-81E 耐性最强。

1.1.2 材料培养

8 月上旬,挑取饱满甜高粱种子经 5% 的次氯酸钠消毒 10 min,蒸馏水冲洗干净后,水中浸泡 12 h 后置放在滤纸上发芽,发芽后播于盛有 5 kg 石英砂(50~100 目)的花盆中,每 3 d 用蒸馏水透灌 1 次,待

幼苗长至 2 叶时(6 d 后),每盆留 20 株生长相对一致的幼苗进行盐碱胁迫处理。

1.1.3 盐碱胁迫处理

用 Hoagland 营养液将碱性盐 NaHCO_3 和 Na_2CO_3 按摩尔比 5:1 配制成盐浓度为 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液作为苏打盐碱胁迫液(pH9.27,盐度 2.79%)。待甜高粱幼苗长至 2 叶时,对照组(CK)用 Hoagland 营养液(pH6.69,盐度 0.38%)透灌,处理组用胁迫液透灌。以后每 3 d 透灌 1 次。植株在自然条件下培养,遮雨防水。每组设 3 个重复,处理 3 周后取样测定各项指标。

1.2 测定指标及方法

1.2.1 叶片显微结构的观察及测定

在完全伸展第 4 叶片中部的主脉和避开主脉的两侧取样,取样面积 $5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$,用 FAA 溶液固定,真空泵抽气至叶片下沉,然后经乙醇和二甲苯系列梯度脱水,石蜡包埋,横切片厚度 $10 \mu\text{m}$,番红-固绿二重染色^[13]。中性树胶封片后在 OLYMPUS 光学显微镜下用测微尺测量叶片厚度、最大导管直径、中脉厚度、上下表皮厚度和上下角质层厚度。每个处理观测 10~15 个视野,取均值,同时进行显微照相。

1.2.2 叶片叶绿体超微结构的观察及测定

在完全伸展第 4 叶片中部避开主脉的两侧取样,取样面积 $2 \text{ mm} \times 3 \text{ mm}$,立即放入戊二醛固定液(pH 6.7,2.5%)中,用真空泵抽气至叶片下沉,固定 24 h 后用磷酸缓冲液($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)冲洗 3 次,在 $0 \sim 4^\circ\text{C}$ 下用锇酸(pH7.2,1%)固定 4 h,磷酸缓冲液冲洗 3 次,乙醇梯度脱水,Epon-812 环氧树脂包埋聚合,LKBV 型超薄切片机切片,醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色,日立公司 H-7650 型透射电镜观察、拍照和测量^[14]。观测维管束鞘细胞和叶肉细胞中的叶绿体结构、数量、大小(以长 $\times$ 宽表示)和叶绿体中淀粉粒数和嗜锇滴数。每个处理观测 20 个视野,取均值。

1.2.3 生长指标观察及测定

盐碱胁迫 3 周后,观察 314B 和 M-81E 各处理和对照的生长状况。每组随机挑选 10 株植物材料测量株高及茎基粗度(以周长表示)。

1.2.4 生理指标测定

盐碱胁迫 3 周后,各处理随机选取 20 株植物的绿色叶片混合,随机称取混合样 3 份进行生理指标测定^[15]。叶绿素含量测定采用 80% 丙酮浸提法,在 645、652、470 nm 波长下测定吸光值;质膜相对透性测定采用电导率法,质膜相对透性(%)=外渗液电导率/煮沸电导率 $\times 100$;脯氨酸含量测定采用酸性茚三

酮比色法,在 520 nm 波长下测定吸光度值;MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸比色法,在 532、600、450 nm 波长处测定吸光度值;SOD 活性测定采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法,以抑制 NBT 光化还原 50%的酶液量为 1 个酶活力单位(U);POD 活性测定采用愈创木酚氧化法,以 OD₄₇₀ 每分钟变化 0.01 为 1 个酶活力单位(U);CAT 活性测定采用紫外吸收法,以 OD₂₄₀ 每分钟变化 0.1 所需的酶液量为 1 个活力单位(U)。

1.3 数据统计分析

数据用 SPSS 16.0 和 Excel 软件进行统计分析,采用单因素方差分析(ANOVA)和新复极差法(Duncan)比较同一品种不同处理间的差异显著性, $P<0.05$ 时有统计学意义。数值为平均值±标准差。

2 结果与分析

2.1 苏打盐碱胁迫对不同品种甜高粱幼苗叶片解剖结构的影响

如表 1 所示,苏打盐碱胁迫后,甜高粱两个品种 314B 和 M-81E 的叶片厚度、中脉厚度和最大导管直径都极显著变小($P<0.01$),其中品种 314B 的中脉厚度的均值在胁迫后比对照降低 21.9%,而品种 M-81E

仅降低 8.6%。盐碱胁迫使甜高粱叶片上下角质层的厚度均极显著增加,下表皮厚度增大。盐碱胁迫对两个品种甜高粱叶片上表皮厚度(未计算泡状细胞厚度)基本无影响。

2.2 苏打盐碱胁迫对不同品种甜高粱幼苗叶片叶绿体和线粒体超微结构的影响

由表 2 可见,苏打盐碱胁迫下甜高粱叶片细胞中叶绿体数略有增加,但不显著($P>0.05$)。而叶绿体的长度均增加,且品种 314B 达到极显著($P<0.01$);叶绿体的宽度差异不显著($P>0.05$)。与对照相比,盐碱胁迫下两个甜高粱品种叶绿体中的淀粉粒和嗜锲滴颗粒数都极显著增加($P<0.01$),品种 314B 两个指标分别比对照高 18.7%和 159.4%,品种 M-81E 则分别高 17.8%和 95.0%。

用透射电镜观察甜高粱幼苗叶片叶绿体和线粒体的超微结构如图 1。甜高粱是 C4 植物,其维管束鞘细胞叶绿体大且无基粒或基数发育不良(图 1,1-2),叶绿体中基质类囊体沿叶绿体长轴方向排列,淀粉粒在基质类囊体间隙中沿叶绿体长轴方向分布。未盐碱胁迫的叶肉细胞中叶绿体发育正常,基粒较多,基质片层和基粒片层结构完整,排列整齐有序,基质浓厚

表 1 苏打盐碱胁迫对甜高粱叶片解剖结构的影响
Table 1 Effect of saline-sodic stress on anatomical structure of sweet sorghum leaves

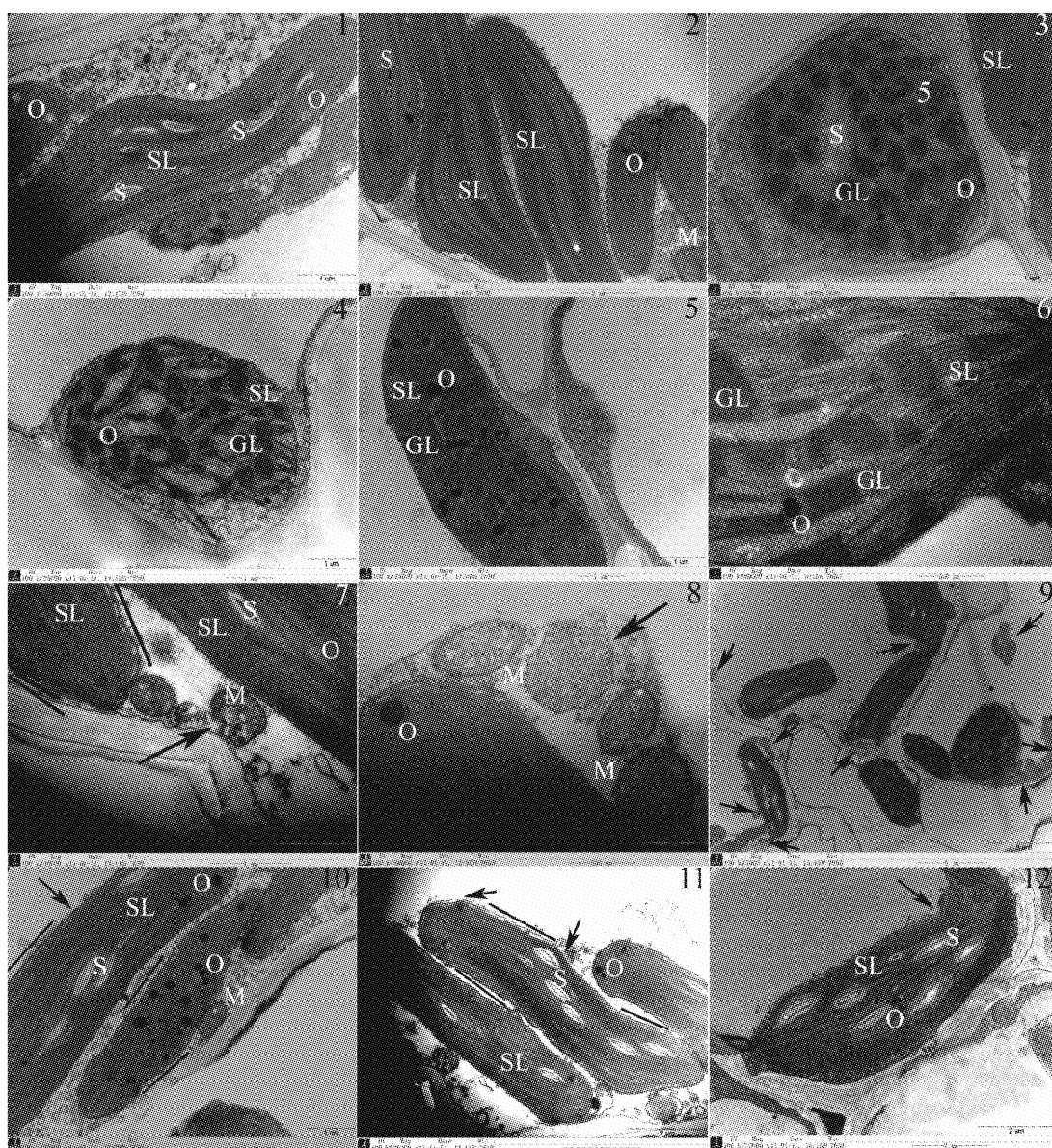
项目	314B		M-81E	
	CK Control	胁迫 Stress	CK Control	胁迫 Stress
叶片厚度 Leaf thickness/ μm	113.9±3.2A	106.3±1.1B	117.5±2.1A	112.8±1.4B
中脉厚度 Midrib thickness/ μm	719.8±4.6A	562.2±8.9B	604.6±4.6A	552.7±6.0B
最大导管直径 Bigger vessels diameter/ μm	52.0±0.9A	44.7±1.4B	44.5±1.6A	37.9±1.3B
上表皮厚度 Upper epidermis thickness/ μm	26.8±4.2A	25.9±3.4A	27.9±2.4A	28.0±2.2A
下表皮厚度 Lower epidermis thickness/ μm	23.7±2.5B	25.9±2.8A	25.2±2.7b	26.5±2.6a
上角质层厚度 Upper stratum corneum thickness/ μm	2.49±0.22B	3.17±0.31A	3.04±0.11B	3.48±0.18A
下角质层厚度 Lower stratum corneum thickness/ μm	2.01±0.22B	2.60±0.20A	2.94±0.21B	3.25±0.15A

注:同一行中标以不同大小写字母分别表示差异达 0.01 和 0.05 显著水平。
Note: Values followed by different lower cases or capitals within the same line are significantly different at 0.05 and 0.01 level, respectively.

表 2 苏打盐碱胁迫对甜高粱幼苗叶片叶绿体超微结构的影响
Table 2 Effect of saline-sodic stress on chloroplast ultrastructure in leaves of sweet sorghum seedlings

品种 Variety	处理 Treatment	叶绿体数/细胞 Chloroplast number/cell	叶绿体大小(长×宽)Chloroplast size(length×width)/ $\mu\text{m}\times\mu\text{m}$	淀粉粒数/叶绿体 Starch grain number/chloroplast	嗜锲滴数/叶绿体 Osmophilic globule number/chloroplast
314B	CK Control	4.68±0.75A	(5.93±0.46)×(2.27±0.28)B	4.81±0.75B	3.50±0.86B
	胁迫 Stress	5.20±1.14A	(6.71±0.71)×(2.17±0.17)A	5.71±0.86A	9.08±3.00A
M-81E	CK Control	4.13±0.83A	(6.44±0.87)×(2.12±0.21)A	4.73±0.59B	3.37±1.50B
	胁迫 Stress	4.20±0.79A	(6.74±0.87)×(2.24±0.21)A	5.57±1.04A	6.57±2.31A

注:同一列中标以不同大小写字母分别表示差异达 0.01 和 0.05 显著水平。下同。
Note: Values followed by different lower case or capitals within the same line are significantly different at 0.05 and 0.01 level, respectively, The same be-
low.



1~2:维管束鞘细胞叶绿体;3~6:叶肉细胞叶绿体;7~9:线粒体;10~11:叶绿体被膜;1,7~11:品种 314B;2~6,12:品种 M-81E

S:淀粉粒;O:嗜锇滴;SL:基质片层;GL:基粒片层;M:线粒体

1~2:Chloroplast in vascular bundle sheath cells;3~6:Chloroplast in mesophyll cells;7~9:Mitochondria;10~11:Chloroplasts envelope;1,7~11:314B;2~6,12:M-81E;S:Starch grains;O:Osmiophilic droplet;SL:Stroma lamella;GL:Grana lamella;M:Mitochondria

图1 苏打盐碱胁迫对甜高粱幼苗叶片超微结构的影响

Figure 1 Effect of saline-sodic stress on leaf ultrastructure of sweet sorghum seedlings

均匀(图1,3);而盐碱胁迫后,维管束鞘细胞和叶肉细胞的叶绿体膨胀,类囊体膜被破坏,基粒片层松散肿胀,且形成较多嗜锇滴颗粒(图1,5~6),有些基粒片层还发生扭曲变形(图1,4);盐碱胁迫后,线粒体膜断裂、消解,多数线粒体内膜上嵴数量减少,甚至消失,结构紊乱(图1,7~8);品种314B细胞中出现较多线粒体(图1,9,箭头所示位置),胁迫使叶绿体被膜和基质分离,出现类似质壁分离现象(各图中黑线标志),且被膜多处断裂消解(箭头所示),品种M-81E

被膜和基质分离现象不太明显,被膜消解也较品种314B要轻微(图1,10~12)。

2.3 苏打盐碱胁迫对不同品种甜高粱幼苗生长状况的影响

3周后,胁迫组长出5片叶,而对照组则长出6片叶。品种314B胁迫组植株下数第1叶和第2叶全叶变黄,第3叶叶尖变黄;品种M-81E植株仅第1和第2叶叶尖变黄。两个品种的株高和茎基周长如图2和图3所示,胁迫处理的株高和茎基周长均比对照

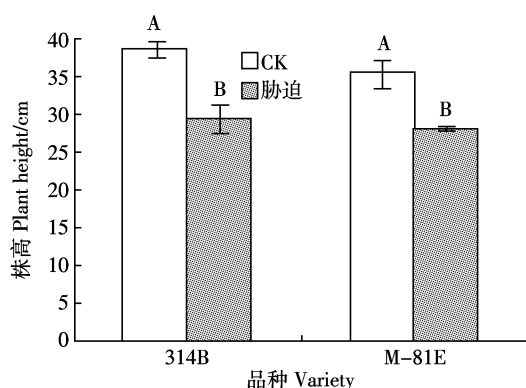


图 2 苏打盐碱胁迫对甜高粱幼苗株高的影响

Figure 2 Effect of saline-sodic stress on plant height of sweet sorghum seedling

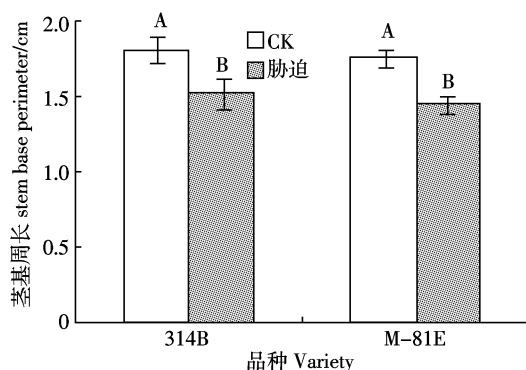


图 3 苏打盐碱胁迫对甜高粱幼苗茎基周长的影响

Figure 3 Effect of saline-sodic stress on stem base perimeter of sweet sorghum seedling

极显著减小($P<0.01$),品种 314B 的株高和茎基周长分别下降了 23.8%和 16.0%,品种 M-81E 则分别下降了 20.8%和 17.6%。

2.4 苏打盐碱胁迫对不同品种甜高粱幼苗叶片叶绿体色素含量的影响

苏打盐碱胁迫显著增加甜高粱叶片叶绿体色素的含量,如表 3 所示。两个品种叶片中的叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素(a+b)和类胡萝卜素含量在胁迫后都较对照极显著增加($P<0.01$),品种 314B 和 M-81E 的叶绿素(a+b)较对照增加了 3.6%和 5.0%。

2.5 苏打盐碱胁迫对不同品种甜高粱幼苗叶片质膜相对透性的影响

如图 4 所示,盐碱胁迫使两个甜高粱品种叶片质

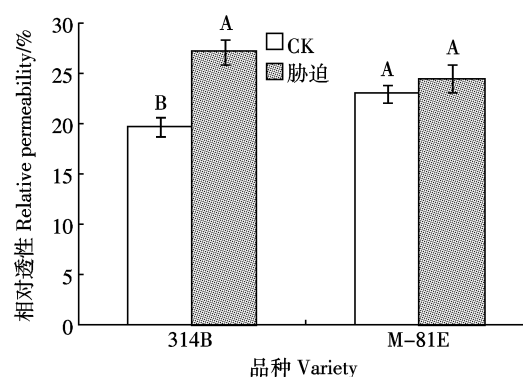


图 4 苏打盐碱胁迫对甜高粱幼苗叶片质膜相对透性的影响

Figure 4 Effect of saline-sodic stress on plasma membrane relative permeability in leaves of the sweet sorghum seedling

膜相对透性都升高,但品种 314B 达到极显著($P<0.01$),而品种 M-81E 虽增加但不显著($P>0.05$)。品种 314B 和 M-81E 质膜相对透性分别比对照增加了 37.6%和 6.5%,可见品种 314B 叶片质膜受盐碱胁迫伤害较严重。

2.6 苏打盐碱胁迫对不同品种甜高粱幼苗叶片MDA含量的影响

苏打盐碱胁迫对甜高粱叶片 MDA 含量的影响如图 5。胁迫后,品种 314B 的 MDA 含量极显著增加($P<0.01$),比对照增加了 26.9%。品种 M-81E 的胁迫组与对照组含量无显著差别($P>0.05$)。MDA 是膜脂过氧化的分解产物,它本身对植物细胞具有明显的毒

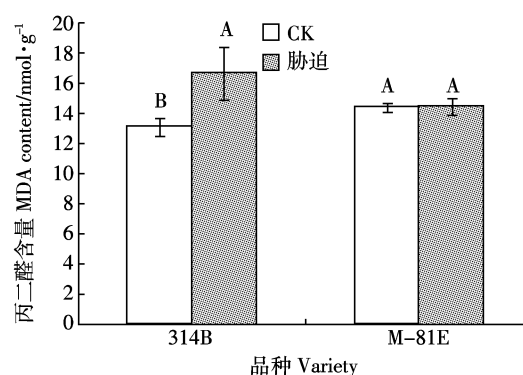


图 5 苏打盐碱胁迫对甜高粱幼苗叶片丙二醛含量的影响

Figure 5 Effect of saline-sodic stress on MDA content in leaves of the sweet sorghum seedling

表 3 苏打盐碱胁迫对甜高粱幼苗叶片叶绿素和类胡萝卜素含量的影响

Table 3 Effect of saline-sodic stress on the chlorophyll and carotenoid contents in leaves of sweet sorghum seedlings

品种 Variety	处理 Treatment	叶绿素 a Chla/mg·g ⁻¹	叶绿素 b Chlb/mg·g ⁻¹	叶绿素 a+b Chl a+b/mg·g ⁻¹	类胡萝卜素 Car/mg·g ⁻¹	叶绿素 a/b Chla/Chlb
314B	CK Control	1.382±0.004B	0.421±0.003B	1.804±0.006B	0.243±0.002B	3.281±0.019b
	胁迫 Stress	1.441±0.005A	0.432±0.003A	1.872±0.008A	0.272±0.001A	3.338±0.010a
M-81E	CK Control	1.441±0.004B	0.410±0.003B	1.851±0.007B	0.229±0.004B	3.515±0.037a
	胁迫 Stress	1.500±0.003A	0.442±0.002A	1.943±0.004A	0.249±0.051A	3.394±0.010b

害作用,能对膜和细胞造成进一步伤害,其含量可反映植物遭受逆境伤害的程度。通常认为,胁迫下抗性强的品种 MDA 的含量会低于抗性弱的品种。

2.7 苏打盐碱胁迫对不同品种甜高粱幼苗叶片脯氨酸含量的影响

如图 6 所示,盐碱胁迫可使两个甜高粱品种叶片中脯氨酸含量都极显著升高($P<0.01$)。品种 314B 和 M-81E 胁迫后脯氨酸的含量分别比对照高出 18.0% 和 33.7%。

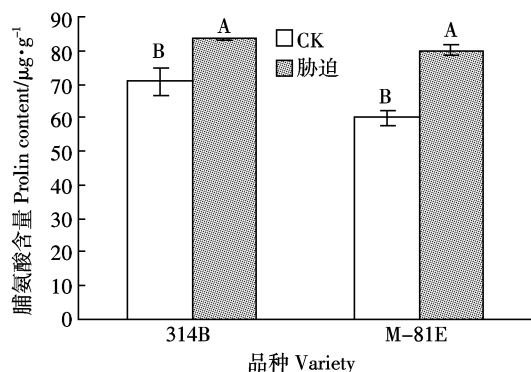


图 6 苏打盐碱胁迫对甜高粱幼苗叶片脯氨酸含量的影响

Figure 6 Effect of saline-sodic stress on proline content in leaves of sweet sorghum seedling

2.8 苏打盐碱胁迫对不同品种甜高粱幼苗保护酶活性的影响

苏打盐碱胁迫对甜高粱幼苗保护酶活性的影响如表 4 所示。胁迫后, SOD 的活性均极显著降低($P<0.01$), 品种 314B 和 M-81E 分别比对照下降了 32.3% 和 22.8%; 品种 314B 的 POD 活性和 CAT 活性均极显著升高 ($P<0.01$), 分别比对照增加 37.6% 和 28.2%; 品种 M-81E 的 POD 活性和 CAT 活性显著升高($P<0.05$), 分别比对照增加 14.7% 和 8.9%。

3 讨论

3.1 苏打盐碱胁迫下甜高粱幼苗叶片解剖结构及超微结构的变化

植物器官的形态结构是与其生理功能和生长环境密切相适应的,叶在形态结构上的变异性和可塑性

最大^[16]。本研究中,苏打盐碱胁迫使甜高粱叶片厚度、中脉厚度和最大导管直径都极显著变小。中脉在叶片中起着支持和输导作用,中脉及最大导管直径均直接决定水分的输导效率。据此推测,盐碱胁迫抑制了甜高粱根系对水分的吸收和运输。同时,盐碱胁迫使甜高粱叶片上下角质层的厚度均极显著增加,下表皮厚度也是增大的,不同品种间存在差异。盐碱胁迫会使植物水分代谢受到直接的影响,而较大的表皮细胞具有贮水作用,对于增强水分的调节能力有一定意义;角质层能够防止植物体内水分的过分蒸腾,保持水分,还具有机械支撑作用,使植株在水分供应不足时,不会立即萎蔫^[17]。因而表皮和角质层增厚是甜高粱对苏打盐碱胁迫的适应。

胁迫会使叶绿体和线粒体的超微结构发生变化^[10, 18-20]。本研究中,苏打盐碱胁迫使叶绿体膨胀,被膜和基质分离,类囊体膜被破坏,基粒片层松散肿胀,有些基粒片层还发生扭曲变形,淀粉粒积累,且形成较多嗜锇滴颗粒,使线粒体膜断裂、消解,多数线粒体内膜上嵴数量减少,甚至消失,结构紊乱。嗜锇滴是类囊体降解产物脂质聚集的结果,其变化可以作为叶细胞受伤程度的指标^[21]。叶绿体中光合膜的损伤与活性氧的增加有关,胁迫下,植物细胞中活性氧的产生和清除两个过程平衡状态被打破,引起活性氧过剩,加剧膜脂中不饱和脂肪酸的过氧化作用^[22]。盐碱胁迫使淀粉粒数量显著增加,分析可能有两方面原因:一是胁迫使光合产物不能及时运走而在叶绿体中累积,产生对光合速率的反馈抑制^[23],同时较多淀粉粒会对光合系统造成压迫而影响光合速率;二是淀粉粒增加可使类囊体附近保持很高的糖浓度,以避免类囊体解离而维持正常的光合磷酸化^[24]。叶绿体和线粒体是光合作用的场所,苏打盐碱胁迫破坏了叶绿体和线粒体的结构,将进一步影响植物体内物质和能量代谢。

3.2 苏打盐碱胁迫下甜高粱幼苗生长状况及叶绿体色素的变化

本研究中苏打盐碱胁迫影响了甜高粱幼苗的生

表 4 苏打盐碱胁迫对甜高粱幼苗保护酶活性的影响

Table 4 Effect of saline-sodic stress on activity of protective enzymes in leaves of sweet sorghum seedlings

品种 Variety	处理 Treatment	SOD 活性 SOD activity/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	POD 活性 POD activity/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	CAT 活性 CAT activity/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$
314B	CK Control	161.59±5.67A	336.67±28.87B	175.60±4.21B
	胁迫 Stress	109.46±4.05B	463.33±5.77A	225.20±4.12A
M-81E	CK Control	154.71±2.76A	478.09±24.61b	182.00±2.50b
	胁迫 Stress	119.41±1.49B	559.00±33.66a	198.20±6.16a

长发育,使叶片发育滞后,且使植株基部叶片及叶尖变黄。叶片是进行光合作用的主要器官,盐碱胁迫造成的叶片光合面积减小最终会导致产量降低。苏打盐碱胁迫显著增加甜高粱叶片叶绿体色素的含量,原因可能是:甜高粱在苏打盐碱胁迫下,根系的吸水能力下降,使植株体内水分含量下降;同时植物为抵抗逆境胁迫而主动减少体内自由水的含量,导致胁迫后的植株单位鲜重叶片中水分含量减少,干物质积累相对较高。这可能导致单位重量鲜重叶片中叶绿体色素明显增加。

3.3 苏打盐碱胁迫下甜高粱幼苗抗性指标的变化

各种逆境胁迫引起伤害的最直接的作用部位是细胞质膜,而丙二醛作为膜脂过氧化产物可使膜中酶蛋白发生交联并失活,进一步损伤细胞膜的结构和功能^[25-26]。本研究,苏打盐碱胁迫使甜高粱叶片质膜相对透性和丙二醛含量都升高,不同品种升高的幅度存在显著差异。

苏打盐碱胁迫下,植物根系所处的外界环境中水势明显下降,植物可通过产生渗透调节物质来降低自身的水势。脯氨酸是植物在逆境胁迫下主要的渗透调节物质,可提高细胞内溶质浓度,降低水势,使植物仍能从外界继续吸水维持基本的生长发育。通常认为,抗逆性强的品种积累的脯氨酸较多^[26]。本研究中,苏打盐碱胁迫使甜高粱叶片中脯氨酸含量显著升高,不同品种升高幅度差异较大。

逆境胁迫产生的活性氧过剩会损伤一切生物膜,包括细胞质膜和细胞器的膜,如叶绿体膜、线粒体膜和类囊体膜等^[11,27],本研究也得出相同结论。但逆境也会诱发植物体内保护酶系统加速清除活性氧的进程,SOD、POD和CAT是主要的抗氧化酶,可清除植株体内有害的活性氧而保护植物膜系统^[12,28]。本研究中,苏打盐碱胁迫下,甜高粱POD活性和CAT活性均显著升高,体现了甜高粱植物自主减轻细胞伤害的适应性反应。但SOD活性显著降低,这可能是长期盐碱胁迫下SOD为清除多余活性氧自由基而过度消耗,再加上自由基积累对SOD酶蛋白的破坏双重作用的结果。

3.4 不同甜高粱品种对苏打盐碱胁迫耐性分析

甜高粱是耐盐碱的作物,但不同品种的耐性存在差异^[5,26]。本研究中供试的两个甜高粱品种314B和M-81E对苏打盐碱胁迫耐性存在显著差异。与各自品种的对照相比,品种314B在盐碱胁迫后叶片变黄面积大,中脉厚度、株高和茎基周长下降的程度均比

M-81E大。品种314B叶绿体的超微结构受损伤较严重,嗜锻滴颗粒出现数量多,尤其是叶绿体被膜和基质发生的类似质壁分离现象更明显;而且在较多观测视野的细胞中出现大量的线粒体,可能此品种需要消耗较多能量去抵抗盐碱胁迫,用于植株建成的能量就会减少,因而会影响自身生物量增加。品种M-81E在盐碱胁迫后,质膜相对透性只比对照增加了6.5%,而314B则增加了37.6%。品种M-81E的MDA含量胁迫前后几乎没有变化,但314B的MDA含量增加了26.9%。品种M-81E产生渗透调节物质脯氨酸含量比314B高出很多。在抗性酶系统活性方面,M-81E的POD和CAT活性只达到差异显著($P<0.05$),314B却达到差异极显著($P<0.01$)。总体说,M-81E受损伤程度小,耐苏打盐碱胁迫能力强;314B受损伤程度大,耐苏打盐碱胁迫能力弱。

4 结论

综上所述,甜高粱在苏打盐碱胁迫后,叶片会变黄,生长发育滞后,生长量下降,叶绿体和线粒体超微结构受到破坏,质膜相对透性增加,质膜过氧化程度升高。但甜高粱可通过增加表皮及角质层厚度来降低水分亏缺,过量产生脯氨酸来调节水势,提高抗氧化酶活性来消除活性氧自由基的毒害作用等途径来抵抗逆境胁迫。不同品种甜高粱对苏打盐碱胁迫的抗性存在较大差异。此外,甜高粱抵抗苏打盐碱胁迫的生理基础及分子机制还有待于更进一步研究。

参考文献:

- [1] Zhu J K. Plant salt tolerance[J]. *Trends in Plant Science*, 2001, 6(2): 66-71.
- [2] Wei W, Bilsborrow P E, Hooley P, et al. Salinity induced differences in growth, ion distribution and partitioning in barley between the cultivar Maythorpe and its derived mutant Golden Promise[J]. *Plant and Soil*, 2003, 250: 183-191.
- [3] 王志春, 杨 福, 陈 渊, 等. 苏打盐碱胁迫下水稻体内 Na^+ 、 K^+ 响应[J]. *生态环境*, 2008, 17(3): 1198-1203.
WANG Zhi-chun, YANG Fu, CHEN Yuan, et al. Sodium and potassium responses to sodicity stress in rice[J]. *Ecology and Environment*, 2008, 17(3): 1198-1203.
- [4] 邹剑秋, 宋仁本, 卢庆善, 等. 新型绿色可再生能源作物: 甜高粱及其育种策略[J]. *杂粮作物*, 2003, 23(3): 134-135.
ZOU Jian-qiu, SONG Ren-ben, LU Qing-shan, et al. A new green renewable energy crop: Sweet sorghum and its breeding tactics[J]. *Rain Fed Crops*, 2003, 23(3): 134-135.
- [5] 王秀玲, 程 序, 李桂英. 甜高粱耐盐材料的筛选及芽苗期耐盐性相关分析[J]. *中国生态农业学报*, 2010, 18(6): 1239-1244.
WANG Xiu-ling, CHENG Xu, LI Gui-ying. Screening sweet sorghum varieties of salt tolerance and correlation analysis among salt tolerance

- indices in sprout stage[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2010, 18(6):1239-1244.
- [6] 柴媛媛, 史团省, 谷卫彬. 种子萌发期甜高粱对盐胁迫的响应及其耐盐性综合评价分析[J]. 种子, 2008, 27(2):43-47.
- CHAI Yuan-yuan, SHI Tuan-sheng, GU Wei-bin. Response to salt stresses and salt-resistance evaluation of sweet sorghum during seed germination stage[J]. *Seed*, 2008, 27(2):43-47.
- [7] Lacerda C F, Cambraia J, Oliva M A, et al. Changes in growth and in soluble concentrations in sorghum leaves and roots during salt stress recovery[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2005, 54:69-76.
- [8] Netondo G W, Onyango J C, Beck E. Sorghum and salinity: I. response of growth, water relations, and ion accumulation to NaCl salinity[J]. *Crop Science*, 2004, 44(3):797-805.
- [9] 黄志伟, 彭敏, 陈桂琛, 等. 青海湖盐碱湿地灰绿藜叶的形态解剖学研究[J]. 西北植物学报, 2001, 21(6):1199-1203.
- HUANG Zhi-wei, PENG Min, CHEN Gui-chen, et al. An anatomical study on the leaf structure of salinized wetland *Chenopodium glaucum* of Qinghai Lake[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2001, 21(6):1199-1203.
- [10] 王波, 宋凤斌, 任长忠, 等. 盐碱胁迫对燕麦叶绿体超微结构及一些生理指标的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2005, 27(5):473-477, 485.
- WANG Bo, SONG Feng-bin, REN Chang-zhong, et al. Effects of saline-alkali stress on ultrastructure in chloroplast and some physiological indexes of Oats[J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2005, 27(5):473-477, 485.
- [11] 张丽平, 王秀峰, 史庆华, 等. 黄瓜幼苗对氯化钠和碳酸氢钠胁迫的生理响应差异[J]. 应用生态学报, 2008, 19(8):1854-1859.
- ZHANG Li-ping, WANG Xiu-feng, SHI Qing-hua, et al. Differences of physiological responses of cucumber seedlings to NaCl and NaHCO₃ stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(8):1854-1859.
- [12] 张永峰, 殷波. 混合盐碱胁迫对苗期紫花苜蓿抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响[J]. 草业学报, 2009, 18(1):46-50.
- ZHANG Yong-feng, YIN Bo. Influences of salt and alkali mixed stresses on antioxidative activity and MDA content of *Medicago sativa* at seedling stage[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2009, 18(1):46-50.
- [13] 林加涵, 魏文铃, 彭宣宪. 现代生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002:70-82.
- LIN Jia-han, WEI Wen-ling, PENG Xuan-xian. Modern biology experiments[M]. Beijing: Higher Education Press, 2002:70-82.
- [14] 白志英, 李存东, 屈平. 干旱胁迫对小麦中国春-Synthetic 6x 代换系叶片超微结构的影响[J]. 电子显微学报, 2009, 28(1):68-73.
- BAI Zhi-ying, LI Cun-dong, QU Ping. Effect of drought stress on ultrastructure of flag leaves in wheat chromosome substitution lines[J]. *J Chin Electron Microscopy Soc*, 2009, 28(1):68-73.
- [15] 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, 2007:36-103.
- ZHANG Li-jun, FAN Jin-juan. Plant physiology experiments[M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2007:36-103.
- [16] 王怡. 三种抗旱植物叶片解剖结构的对比观察[J]. 四川林业科技, 2003, 24(1):64-67.
- WANG Yi. Contrasts and observations of dissecting constructs of three drought-resistant plant leaf slices[J]. *Journal of Sichuan Forestry Science and Technology*, 2003, 24(1):64-67.
- [17] 迟丽华, 宋凤斌. 松嫩平原西部盐碱地区 10 种植物叶片结构特征及其生态适应性[J]. 生态环境, 2006, 15(6):1269-1273.
- CHI Li-hua, SONG Feng-bin. Analyse of leaves' structure character and ecological adaptation of ten plants in the west alkaline rict of Songnen plain[J]. *Ecology and Environment*, 2006, 15(6):1269-1273.
- [18] 姚允聪, 王绍辉, 孔云. 弱光条件下桃叶片结构及光合特性与叶绿体超微结构变化[J]. 中国农业科学, 2007, 40(4):855-863.
- YAO Yun-cong, WANG Shao-hui, KONG Yun. Characteristics of photosynthesis machinism in different peach species under low light intensity[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(4):855-863.
- [19] 黄俊, 郭世荣, 吴震, 等. 弱光对不结球白菜光合特性与叶绿体超微结构的影响[J]. 应用生态学报, 2007, 18(2):352-358.
- HUANG Jun, GUO Shi-rong, WU Zhen, et al. Effects of weak light on photosynthetic characteristics and chloroplast ultrastructure of non-heading Chinese Cabbage[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(2):352-358.
- [20] 睦晓蕾, 毛胜利, 王立浩, 等. 辣椒幼苗叶片解剖特征及光合特性对弱光的响应[J]. 园艺学报, 2009, 36(2):195-208.
- SUI Xiao-lei, MAO Sheng-li, Wang Li-hao, et al. Response of anatomical structure and photosynthetic characteristics to low light in leaves of Capsicum seedlings[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2009, 36(2):195-208.
- [21] 陈燕, 郑小林, 曾富华, 等. 高温干旱下两种冷季型草坪草叶片细胞超微结构的变化[J]. 西北植物学报, 2003, 23(2):304-308.
- CHEN Yan, ZHENG Xiao-lin, ZENG Fu-hua, et al. Alterations in leaf cellular ultrastructure of two winter-lawn grasses species subjected to high temperature and soil drought stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2003, 23(2):304-308.
- [22] Tanaka K. Accumulation of hydrogen peroxide in chloroplasts of SO₂ fumigated spinach leaves[J]. *Plant Cell Physiology*, 1982, 23:999-1007.
- [23] Chaterton N J, Carlson G E, Hungerford W E, et al. Effect of tillering and cool nights on photosynthesis and chloroplast starch in pangola[J]. *Crop Sci*, 1980, 12:206-208.
- [24] 何若韞. 植物低温逆境生理[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1995:107-141.
- HE Ruo-yun. Plants low temperature adversity physiology[M]. Beijing: China Agricultural University Press, 1995:107-141.
- [25] 胡晓辉, 王素平, 曲斌. NaCl 胁迫下亚精胺对番茄种子萌发及幼苗抗氧化系统的影响[J]. 应用生态学报, 2009, 20(2):446-450.
- HU Xiao-hui, WANG Su-ping, QU Bin. Effects of spermidine on seed germination and seedling antioxidant system of tomato under NaCl stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(2):446-450.
- [26] 吕金印, 郭涛. 水分胁迫对不同品种甜高粱幼苗保护酶活性等生理特性的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2010, 28(4):89-93.
- LÜ Jin-yin, GUO Tao. Effects of water stress on activities of protective enzyme and physiological characteristics in seedlings of two varieties of sweet sorghum[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2010, 28(4):89-93.
- [27] Shalata A, Tal M. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in the leaf of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii*[J]. *Physiologia Plantarum*, 1998, 104(2):169-174.
- [28] Fridovich I. Free radical in biology[M]. New York: New York Academic Press, 1975:239.