

DOI: 10.5846/stxb201812252799

陈琳, 张俐文, 刘子亭, 路峰, 冯光海, 颜坤, 韩广轩. 黄河三角洲河滩与潮滩芦苇对盐胁迫的生理生态响应. 生态学报, 2020, 40(6): 2090-2098.

Chen L, Zhang L W, Liu Z T, Lu F, Feng G H, Yan K, Han G X. Physiological and ecological responses of hetan and chaotan *Phragmites australis* to salt stress. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(6): 2090-2098.

黄河三角洲河滩与潮滩芦苇对盐胁迫的生理生态响应

陈琳^{1,2}, 张俐文^{1,*}, 刘子亭², 路峰³, 冯光海³, 颜坤¹, 韩广轩¹

1 中国科学院烟台海岸带研究所, 中国科学院海岸带环境过程与生态修复重点实验室, 烟台 264003

2 聊城大学, 环境与规划学院, 聊城 252000

3 山东省黄河三角洲国家级自然保护区管理局, 东营 257091

摘要: 研究黄河三角洲两种生境芦苇对盐胁迫的生理生态响应差异, 能为退化滨海湿地生态修复中芦苇植株来源的选择提供重要的理论支持。在盐胁迫 (300 mmol/L NaCl) 下, 比较研究了黄河三角洲河滩芦苇 (低盐生境) 和潮滩芦苇 (高盐生境) 叶片中的 Na⁺ 含量、根部分生区 Na⁺ 流速、叶片的光合作用参数、H₂O₂ 的含量、抗氧化酶的活性、丙二醛和脯氨酸的含量。结果表明: 盐胁迫显著提高了河滩芦苇叶片中 Na⁺ 含量, 但对潮滩芦苇叶片 Na⁺ 影响不显著。进一步通过非损伤微测技术研究发现, 盐胁迫后, 潮滩芦苇比河滩芦苇的根部分生区的 Na⁺ 外排流速更高 (潮滩芦苇: (1982.05±122.74) pmol cm⁻² s⁻¹ vs. (87.93±12.94) pmol cm⁻² s⁻¹, P<0.01; 河滩芦苇: (1574.16±458.90) pmol cm⁻² s⁻¹ vs. (-126.88±23.01) pmol cm⁻² s⁻¹, P<0.01), 能有效调节细胞内离子平衡。另外, 盐处理 7 天后潮滩芦苇光合速率 ((16.36±1.09) μmol m⁻² s⁻¹ vs. (22.79±0.67) μmol m⁻² s⁻¹, P<0.01) 显著高于河滩芦苇 ((12.71±0.97) μmol m⁻² s⁻¹ vs. (23.81±0.55) μmol m⁻² s⁻¹, P<0.01)。盐胁迫诱导了两种芦苇叶片中 H₂O₂ 含量和丙二醛含量的显著升高, 而脯氨酸及抗氧化酶的活性也随之显著升高, 并且也显著升高了潮滩芦苇的谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性 ((6.90±1.73) U/mg 蛋白质 vs. (3.54±0.54) U/mg 蛋白质, P<0.05)。综上, 潮滩芦苇比河滩芦苇更适应盐胁迫, 因其根系具有更高的排 Na 能力, 且脯氨酸含量及抗氧化酶活性较高, 提高了抗逆性。因此, 在黄河三角洲退化滨海湿地生态修复中, 可以优先选择潮滩芦苇作为植被修复的材料。

关键词: 盐胁迫; Na⁺ 流速; 光合作用; 抗氧化酶; 脯氨酸; 芦苇

Physiological and ecological responses of hetan and chaotan *Phragmites australis* to salt stress

CHEN Lin^{1,2}, ZHANG Liwen^{1,*}, LIU Ziting², LU Feng³, FENG Guanghai³, YAN Kun¹, HAN Guangxuan¹

1 Key Laboratory of Coastal Environmental Processes and Ecological Remediation, Chinese Academy of Sciences, Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China

2 Liaocheng University, Liaocheng 252000, China

3 Administration Bureau of the Yellow River Delta National Nature Reserve, Dongying 257091, China

Abstract: Characterizing the different physiological and ecological responses of *Phragmites australis* from two habitats in the Yellow River delta to salt stress can provide important theoretical support for the selection of *P. australis* types for the ecological restoration of degraded coastal wetlands. The Na⁺ content, photosynthetic parameters, H₂O₂ content, antioxidant enzyme activity, malondialdehyde content, and proline content of leaves from hetan (low-salt habitat, riverside) and chaotan (high-salt habitat, high marsh) *P. australis* grown under salt stress conditions (300 mmol/L NaCl) were compared, along with the Na⁺ flux of the root growth area. Salt stress significantly increased the Na⁺ content in the hetan

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31670533); 中国科学院青年创新促进会 (2018247); 山东省林业科技创新项目 (LYCX07-2018-39)

收稿日期: 2018-12-25; 网络出版日期: 2019-12-17

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lwzhang@yic.ac.cn

leaves but had no significant effect on that of the chaotan leaves. Furthermore, non-invasive micro-test technology (NMT) revealed greater Na^+ efflux in the chaotan plants ($(1982.05 \pm 122.74) \text{ pmol cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ vs. $(87.93 \pm 12.94) \text{ pmol cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $P < 0.01$) than in the hetan plants ($(1574.16 \pm 458.90) \text{ pmol cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ vs. $(-126.88 \pm 23.01) \text{ pmol cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $P < 0.01$), which could be attributed to the need for chaotan *P. australis* to effectively regulate intracellular ion balance. In addition, the photosynthetic rate of the chaotan plants ($(16.36 \pm 1.09) \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ vs. $(22.79 \pm 0.67) \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $P < 0.01$) was significantly greater than that of the hetan plants ($(12.71 \pm 0.97) \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ vs. $(23.81 \pm 0.55) \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $P < 0.01$) after 7 d of salt treatment. Salt stress induced significant increases in the H_2O_2 , malondialdehyde, and proline contents of leaves from both *P. australis* types, as well as in the activity of antioxidant enzymes. Moreover, the activity of glutathione reductase (GR) in chaotan *P. australis* was increased significantly ($(6.90 \pm 1.73) \text{ U/mgprot}$ vs. $(3.54 \pm 0.54) \text{ U/mgprot}$, $P < 0.05$). These results indicate that chaotan *P. australis* is more adaptable to salt stress than hetan *P. australis*, as indicated by the greater Na^+ efflux of its roots, greater proline content, and greater antioxidant enzyme activity, which promote salt-stress tolerance. Therefore, in the ecological restoration of degraded coastal wetlands in the Yellow River delta, *P. australis* from the high marsh should be selected as the material for vegetation restoration.

Key Words: salt stress; sodium flux; photosynthesis; antioxidant enzyme; proline; *Phragmites australis*

盐渍化是影响生态环境的一个全球性问题。在我国盐渍土壤分布较广,据统计,我国约有 1 亿 hm^2 的盐渍土壤^[1]。植物在盐渍化的土壤中受到的危害主要表现在渗透胁迫、离子毒害、细胞膜脂过氧化以及一些生理代谢的紊乱等。盐胁迫下,土壤溶液离子浓度高导致水势低,植物根细胞的渗透势相对较高,从而抑制植物根系对水分的吸收,形成生理上的干旱^[2]。植物在土壤中吸收的 Na^+ 过多还会影响 K^+ 的吸收^[3],盐溶液浓度过高会影响蛋白质的构象,造成离子毒害,还会改变细胞膜的功能,并增大外渗率^[4]。此外,盐胁迫还会抑制植物的光合作用^[5],积累有毒物质,从而抑制植物的生长。

植物受到盐胁迫时,会启动体内一系列的响应应对盐胁迫的伤害。植物可以积累渗透调节物质来增加细胞液的浓度,降低渗透势,来缓解盐胁迫对植物造成的渗透胁迫^[2]。此外,盐胁迫诱导活性氧含量升高,抗氧化酶活性也随之升高,各抗氧化酶共同清除过多活性氧,来抵御盐胁迫的伤害^[6],这也是植物自我保护的一种方式。植物根系吸收和外排 Na^+ 是其自身能力^[7],植物可以将 Na^+ 排出细胞外,减少细胞中 Na^+ 的积累,降低盐胁迫对植物的毒害作用^[8]。研究表明, Na^+ 外排能力强的植物耐盐性也较高^[9]。近年非损伤微测技术的发展成熟,使得无损伤条件下,测定植物根系 Na^+ 外排能力得以实现^[10]。研究植物对盐胁迫的抗逆机理能为有效利用和修复盐渍化土地提供理论支持。

黄河三角洲处于暖温带气候区,蒸发量比降水量高,从而造成地下水位和潜水的矿化度也较高,使得土壤盐渍化程度加重^[11],滨海湿地植被退化。而芦苇 (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud., 1841) 是黄河三角洲退化滨海湿地生态修复的优良耐盐植物物种。芦苇植被也是黄河三角洲滨海湿地的主要植被类型之一,可以通过对比研究不同自然生境的芦苇种群对盐胁迫的响应,为生态修复芦苇品种的选择提供理论支持。

黄河三角洲处于黄河与渤海交互地带,受淡咸水的交互作用以及地下水与地表水的相互渗透等复杂水文过程影响,孕育出多种湿地类型,其中包括潮汐湿地和河口湿地^[12-13]。潮汐湿地在潮汐作用的周期性下,出现阶段性的淹没和暴露,造成盐分在地表上处于聚集与淋洗的状态,土壤中的水分含盐量较高,出现土壤盐渍化现象^[14],在该区域主要是以潮滩芦苇为优势种。河口湿地位于黄河河滩,并受黄河淡水的影响,土壤盐分含量低^[15],在该区域以河滩芦苇为优势种。显然这两种生境差异很大,但芦苇均是植被的优势种,因此研究不同生境的芦苇对盐胁迫的响应可以为退化湿地的生态修复提供重要的参考信息,具有很大意义。据 2017 年 7 月调查,河滩湿地电导率为 $(1.6 \pm 0.18) \text{ mS/cm}$,河滩芦苇长势较为旺盛,植株平均高度在 1.5 m 左右,最高株高达 3 m,经前期检测为四倍体;而在潮滩地带电导率为 $(5.87 \pm 0.20) \text{ mS/cm}$,潮滩芦苇植株矮小,平均高度在 1 m 左右,最高株高达 1.5 m,经前期检测为八倍体。因此,我们利用同等浓度 NaCl 对不同生境的芦苇进

行盐胁迫的研究,并进一步探讨了盐胁迫对芦苇的光合作用、抗氧化系统以及根部 Na^+ 流的关系。

目前虽然已有许多研究探讨芦苇在不同盐分条件下的生理生态响应,其中包括对莫莫格^[16]、崇明岛东滩^[17]、双台子河口^[18]等湿地以及国内部分河口型和内陆型^[19]的芦苇对不同盐分条件下的生物量、离子含量、光合作用和渗透物质等方面的影响,但对于芦苇根系 Na^+ 外排能力研究未见报道。但也有对其他植物根系 Na^+ 流的研究,比如,耐盐的胡杨(*Populus euphratica*)根系在长期盐胁迫(100 mmol/L, 15 d)下, Na^+ 外流显著高于盐敏感的群众杨,说明胡杨在长期盐胁迫下外排 Na^+ 能力强于群众杨(*P. popularis*)^[9]。

因此,本研究的科学问题是黄河三角洲河滩芦苇和潮滩芦苇的生理生态对盐胁迫如何响应?以黄河三角洲河滩芦苇和潮滩芦苇为材料,运用先进的非损伤微测技术对比研究 NaCl 处理后两种生境芦苇根部分生区的 Na^+ 流速;探讨了两种芦苇的离子毒害、膜脂过氧化产物、渗透物质、光合作用及抗氧化系统等对盐胁迫的响应。以期获得两种生境芦苇的耐盐机理,为黄河三角洲滨海湿地芦苇植被的保护和运用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料与培养

实验于 2018 年 5 月 15 日在黄河三角洲潮汐湿地(37°43'32.3"N, 119°13'55.61"E)和河口湿地(38°03'49.02" N, 118°44'13.5"E)两种生境芦苇采集地下根茎,并带回实验室洗净并泡入水中,在中国科学院烟台海岸带研究所人工气候室内模拟培养,待其生须根发芽后,沙培栽入花盆(口径 10 cm、底径 7.5 cm、盆高 8.5 cm),每两天浇灌 150 mL Hoagland 营养液,人工气候室内维持昼温((28±2) °C),夜温((20±2) °C),光周期为 14 h(光照)/10 h(黑暗),培养至 2018 年 7 月 31 日进行盐胁迫实验。

1.2 实验设计

当芦苇生长到 80 cm 左右时,每种生境芦苇选用六株,设置两个浓度,即 0(对照组)、300 mmol/L NaCl(处理组)处理,在进行实验处理时,将各浓度所需的 NaCl 分别溶解于营养液中,为避免盐冲击效应,在正式处理前先进行预处理,第 1 天的浓度是 0、50 mmol/L NaCl,每次递增 50 mmol/L,第 6 天达到处理浓度,每次 100 mL 溶液。在处理时,浇上处理液(0 和 300 mmol/L NaCl)后下渗完毕后,在盆下垫底盘重复淋洗 3 次,最后回收外渗溶液。正式处理时,隔一天处理一次,在处理后的第一天测光合指标(光合仪 LI-6400 测定),第四次光合指标测定后进行叶片采集,立即用液氮冷冻,保存-80°C待测,根部则立即取下测根系 Na^+ 内流速率。

1.3 测定指标及方法

芦苇叶片 Na^+ 测定参照王宝山等^[20]方法,用火焰分光光度计测定。

芦苇根部分生区 Na^+ 流速测定^[21]:利用非损伤微测系统(NMT, YG-MS-001,美国杨格公司),测定活体芦苇根系表面的净 Na^+ 流速。首先将微电极用 Na^+ (0.1 mmol/L NaCl, 2 mmol/L NaCl, 5 mmol/L NaCl)缓冲液分别进行校准,将不同处理的芦苇鲜根取下,并轻轻冲洗根表面,之后置于培养皿中加入 2 mmol/L NaCl 的测试液平衡 15 min。平衡结束更换测试液,将电极置于根尖分生区的位置,记录电压信号变化幅度相对稳定的 0—3 min。之后通过旭月公司的软件(Mage Flux software)换算得到 Na^+ 流速($\text{pmol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$),并将 0—3 min 之间的平均值作为本实验的 Na^+ 流速计算值。为了消除实验中其他离子影响的误差,将得到的流速数据以对照值(0 mmol/L NaCl)设为 0 作为基准值进行换算得到最终的流速值,每个处理设 3 个重复。

光合指标测定^[22]:取每株芦苇顶端向下第 3 片完全展开、成熟的叶片,保持叶片自然受光状态,利用 LI-6400 便携式光合仪测定芦苇的光合速率(net photosynthetic rate, Pn)、实际光化学效率(quantum yield of PSII, ϕPSII)、利用内置自动光源测定荧光诱导曲线,计算 PSII 实际量子产量 $\phi\text{PSII} = (\text{Fm}' - \text{Ft}) / \text{Fm}'$,光化学猝灭(proportion of open PSII, $q\text{P} = (\text{Fm}' - \text{Ft}) / (\text{Fm}' - \text{Fo}')$),非光化学猝灭(non-photochemical quenching) $q\text{N} = (\text{Fm} - \text{Fm}') / (\text{Fm} - \text{Fo}')$,胞间 CO_2 浓度(intercellular CO_2 concentration, C_i)、气孔导度(stomatal conductance, G_s)与蒸腾速率(tran-spiration rate, Tr),测定时间为 8:00—18:00,设置光强为 $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$,叶室温度为 25 °C,待各指标达到稳定后记录。

抗氧化系统指标有超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、过氧化物酶(per-oxidase, POD)、过氧化氢(H_2O_2)和谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)、脯氨酸(proline, PRO)及丙二醛(malondialdehyde, MDA)的测定均采用南京建成生物工程公司试剂盒提取粗酶液,利用紫外可见分光光度计测定酶的活性^[23]。

1.4 数据统计与分析

对本研究中所有测定的指标,采用R软件进行残差正态性与方差齐性检验,利用单因素方差分析(One-way ANOVA)分析盐胁迫对两种芦苇各指标的影响,并用TukeyHSD法进行多重比较。本文中的百分数均为平均值百分比。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对芦苇叶片 Na^+ 含量的影响

由图1可知,盐胁迫下, Na^+ 在两种生境芦苇的叶片中均有不同程度的升高,但河滩芦苇叶片显著升高,为对照的563.80%((277.47±110.63) mg/kg vs. (41.8±24.68) mg/kg, $P<0.001$);每组数据中的两个值是:处理组 vs. 对照组,下同)。而潮滩芦苇叶片中的 Na^+ 虽然有所升高,为对照的268.59%((128.27±27.66) mg/kg vs. (34.8±7.23) mg/kg, $P=0.278$),与对照仍无统计差异,但低于河滩芦苇的叶片 Na^+ ((277.47±110.63) mg/kg vs. (128.27±27.66) mg/kg, $P=0.05$)。

2.2 盐胁迫对芦苇根部 Na^+ 流速的影响

当 Na^+ 离子流为负值时表示离子是内流的,即为根吸收离子,为正值时为外排离子。由图2可知,无胁迫的对照组 Na^+ 的离子流趋近于0。而盐胁迫下两种生境芦苇根部分生区 Na^+ 均呈现外排状态。盐胁迫使河滩芦苇和潮滩芦苇根系 Na^+ 流速不同程度的升高,说明两种芦苇根系在受到盐胁迫时均为外排。潮滩芦苇盐胁迫后 Na^+ 流速平均值为对照平均值的2178.16%((1982.05±122.74) pmol $cm^{-2} s^{-1}$ vs. (87.93±12.94) pmol $cm^{-2} s^{-1}$, $P<0.001$),河滩芦苇盐胁迫后为对照的1349.2%((1574.16±458.9) pmol $cm^{-2} s^{-1}$ vs. (-126.88±23.01) pmol $cm^{-2} s^{-1}$, $P<0.001$),潮滩芦苇较河滩芦苇 Na^+ 离子流速也显著升高($P=0.001$),说明潮滩芦苇在盐胁迫下 Na^+ 流速(外排)较快。

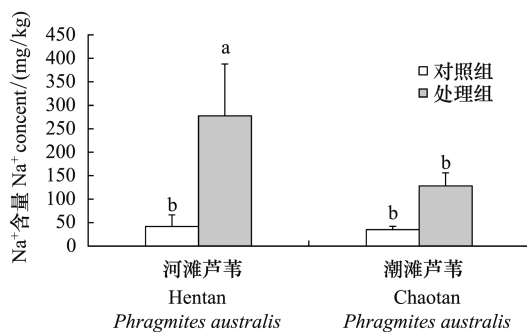


图1 盐胁迫对芦苇叶片 Na^+ 的影响

Fig.1 Effects of salt stress on the Na^+ content in leaves of *Phragmites australis*

图上的误差线为+SD,误差线上标有不同字母代表差异显著($P<0.05$)

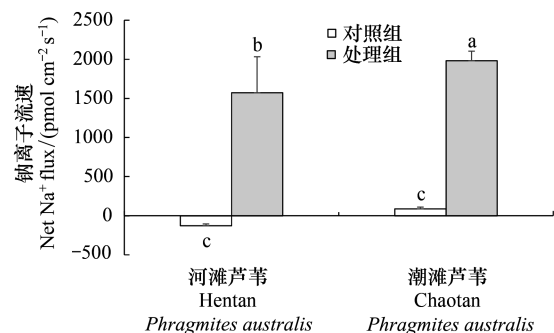


图2 盐胁迫对芦苇根部 Na^+ 流速的影响

Fig.2 Effects of salt stress on the Na^+ flux in roots of *Phragmites australis*

2.3 盐胁迫对芦苇叶片光合作用的气体交换参数的影响

由图3可知,两种生境芦苇的处理组,在盐胁迫至第5天,河滩芦苇和潮滩芦苇的净光合速率分别显著降低29.27%((17.40±2.81) $\mu mol m^{-2} s^{-1}$ vs. (24.60±1.02) $\mu mol m^{-2} s^{-1}$, $P<0.001$)和20.91%((17.44±0.25)

$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ vs. $(22.05 \pm 0.67) \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $P < 0.001$)。在胁迫至第 7 天则分别降低 46.62% ($(12.71 \pm 0.97) \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ vs. $(23.81 \pm 0.55) \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $P < 0.001$) 和 28.25% ($(16.36 \pm 1.09) \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ vs. $(22.79 \pm 0.67) \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $P < 0.001$)，显然河滩芦苇较潮滩芦苇降低幅度大，说明盐胁迫对河滩芦苇影响较显著。

盐胁迫均可导致两种生境芦苇的气孔导度显著降低，随着胁迫时间的延长，盐胁迫至第 7 天河滩和潮滩芦苇分别较对照显著降低 56.67% ($(0.13 \pm 0.01) \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ vs. $(0.30 \pm 0.01) \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $P < 0.001$) 和 58.33% ($(0.11 \pm 0.02) \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ vs. $(0.24 \pm 0.02) \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $P < 0.001$)。两种生境芦苇的胞间浓度在盐胁迫至第 5 天均显著降低，河滩潮滩芦苇分别降低 43.15% ($(131.15 \pm 38.08) \mu\text{mol/mol}$ vs. $(230.68 \pm 18.96) \mu\text{mol/mol}$, $P < 0.001$) 和 46.26% ($(110.32 \pm 9.93) \mu\text{mol/mol}$ vs. $(204.08 \pm 13.14) \mu\text{mol/mol}$, $P < 0.001$)。但随着胁迫时间延长至第 7 天，河滩芦苇的胞间浓度显著升高。两种生境芦苇的蒸腾速率随胁迫时间的延长均显著降低，胁迫至第 7 天时，河滩芦苇和潮滩芦苇均显著降低 41.26% ($(3.16 \pm 0.61) \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ vs. $(5.38 \pm 0.36) \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $P < 0.001$) 和 46.74% ($(2.79 \pm 0.24) \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ vs. $(5.23 \pm 0.17) \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $P < 0.001$)。

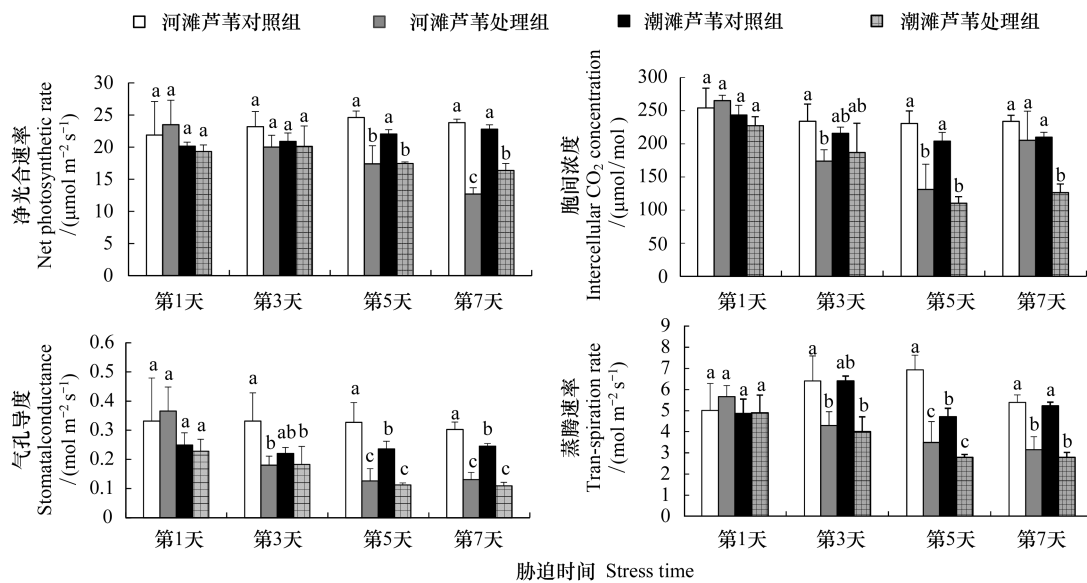


图 3 盐胁迫对芦苇净光合速率、气孔导度、胞间浓度和蒸腾速率的影响

Fig.3 Effect of salt stress on net photosynthetic rate, intercellular CO_2 concentration, stomatal conductance, transpiration rate in *Phragmites australis*

数据为不同浓度的 3 次重复的平均值与标准差，不同的字母表示在 0.05 水平上差异显著

2.4 盐胁迫对芦苇叶片叶绿素荧光特性的影响

由图 4 可知，盐胁迫下，潮滩芦苇叶片的实际光化学量子产量 (ϕPSII) 与对照组无显著性差异，但河滩芦苇在胁迫第 5 天和第 7 天显著降低 12.09% ((0.30 ± 0.01) vs. (0.34 ± 0.02) , $P < 0.001$) 和 15.63% ((0.28 ± 0.01) vs. (0.32 ± 0.02) , $P < 0.001$)。盐胁迫下潮滩芦苇的光化学猝灭 ($q\text{P}$) 与对照无显著性差异，而河滩芦苇胁迫至第 7 天则降低 9.69% ((0.51 ± 0.03) vs. (0.57 ± 0.04) , $P = 0.078$)。非光化学猝灭 ($q\text{N}$) 在胁迫至第 7 天河滩芦苇和潮滩芦苇显著下降，分别下降 5.93% ((2.16 ± 0.07) vs. (2.29 ± 0.05) , $P = 0.034$) 和 7.46% ((2.11 ± 0.02) vs. (2.28 ± 0.03) , $P = 0.007$)。

2.5 盐胁迫对芦苇叶片丙二醛 (MDA) 和脯氨酸 (PRO) 含量的影响

由图 5 可知盐胁迫显著升高两种生境芦苇丙二醛 (MDA) 含量，河滩芦苇为对照的 105.62% ($(1.83 \pm 0.45) \text{U/mg 蛋白质}$ vs. $(0.89 \pm 0.16) \text{U/mg 蛋白质}$, $P = 0.012$)，潮滩芦苇为 $(1.63 \pm 0.24) \text{U/mg 蛋白质}$ vs. $(0.66 \pm 0.12) \text{U/mg 蛋白质}$, $P = 0.011$)。两种生境芦苇脯氨酸 (PRO) 含量在盐胁迫下均显著升高，且潮滩芦苇升高幅度较大，为对照的 606.02% ($(685.27 \pm 86.16) \text{U/mg 蛋白质}$ vs. $(97.07 \pm 6.92) \text{U/mg 蛋白质}$, $P < 0.001$)，河滩

芦苇为 593.75% ((322.87±20.73) U/mg 蛋白质 vs. (46.54±18.26) U/mg 蛋白质, $P=0.007$)。

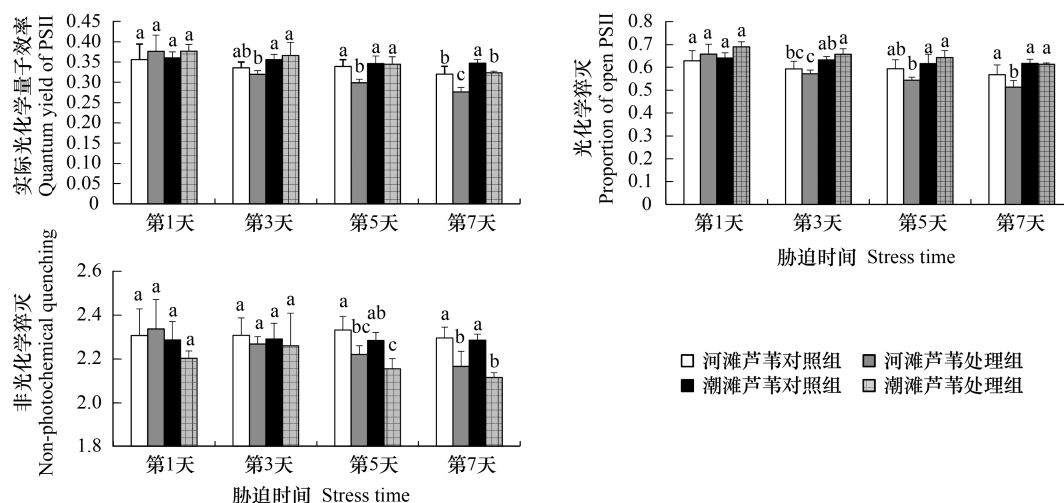


图 4 盐胁迫对芦苇实际光化学量子产量、光化学猝灭和非光化学猝灭的影响

Fig.4 Effect of salt stress on quantum yield of PSII, proportion of open PSII, non-photochemical quenching in *Phragmites australis*

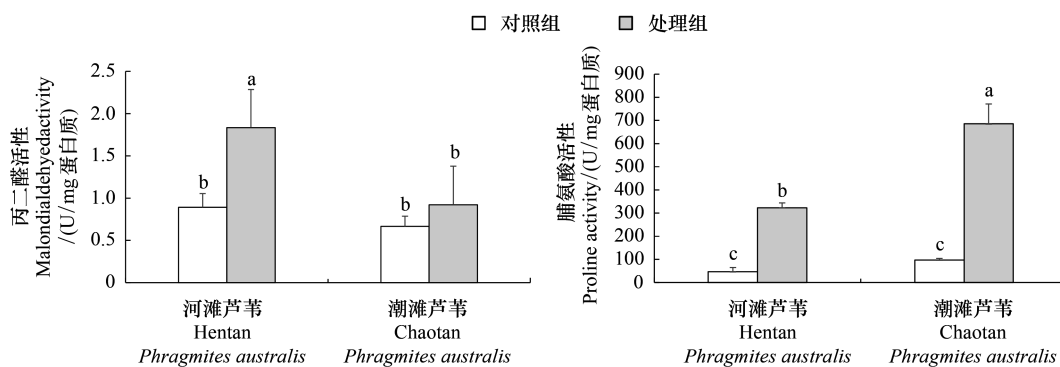


图 5 盐胁迫对芦苇叶片丙二醛、脯氨酸含量的影响

Fig.5 Effects of salt stress on the malondialdehyde, proline content in leaves of *Phragmites australis*

2.6 盐胁迫对芦苇叶片抗氧化酶活性的影响

2.6.1 盐胁迫对芦苇叶片 H_2O_2 含量的影响

实验中以 H_2O_2 为代表分析了盐胁迫下两种生境芦苇叶片活性氧的变化情况。由图 6 可知,盐胁迫诱导河滩芦苇和潮滩芦苇叶片中 H_2O_2 含量显著升高 74.87% ((17.26±1.58) mmol/g 蛋白质 vs. (9.88±3.05) mmol/g 蛋白质, $P=0.045$) 和 68.65% ((22.70±3.44) mmol/g 蛋白质 vs. (13.47±2.65) mmol/g 蛋白质, $P=0.014$)。

2.6.2 盐胁迫对芦苇叶片抗氧化酶活性的影响

由图 7 可知,盐胁迫使河滩芦苇和潮滩芦苇的过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)酶活性显著升高。CAT 酶活性显著升高 73.75% ((18.07±0.42) vs. (10.41±0.92) U/mg 蛋白质, $P=0.052$) 和 88.85% ((22.70±3.44) U/mg 蛋白质 vs. (13.47±2.65) U/mg 蛋白质, $P=0.022$), SOD 酶活性显著升高 43.8% ((7.78±0.90) U/mg 蛋白质 vs. (5.41±0.43) U/mg 蛋白质, $P=0.040$) 和 46.98% ((8.77±0.74) U/mg 蛋白质 vs. (5.96±1.21) U/mg 蛋白质, $P=0.017$), POD 酶活性显著升高 66.07% ((23.36±4.25) U/mg 蛋白质 vs. (14.06±2.61) U/mg 蛋白质, $P=0.050$) 和 135.90% ((24.84±5.13) U/mg 蛋白质 vs. (10.53±0.92) U/mg 蛋

白质, $P=0.005$), 潮滩芦苇上升幅度较河滩芦苇高, 且 POD 的活性高出一半以上。而盐胁迫下谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性与其他抗氧化酶相反, 河滩芦苇叶片对照显著降低 62.93% ((2.29 ± 1.13) U/mg 蛋白质 vs. (6.16 ± 0.99) U/mg 蛋白质, $P=0.016$), 而潮滩芦苇反而显著升高 94.92% ((6.90 ± 1.73) vs. (3.54 ± 0.55) U/mg 蛋白质, $P=0.033$)。

3 讨论与结论

高浓度的盐胁迫会破坏植物体内离子和渗透势平衡, 导致离子毒害, 影响植物生长代谢。盐胁迫能使 Na^+ 等毒害离子在植物内大量积累, 会阻碍植物吸收其他营养成分, 从而造成营养不均衡^[2]。研究表明, 当溶液中的金属离子只有一种时, 这种金属离子会对植物产生单盐毒害作用, 在盐渍土壤中主要是钠离子^[24]。本研究也表明盐胁迫导致两种生境芦苇叶片中 Na^+ 的积累, 且河滩芦苇积累量较多, 说明河滩芦苇自身调节离子的能力低, 且产生的离子毒害较强。

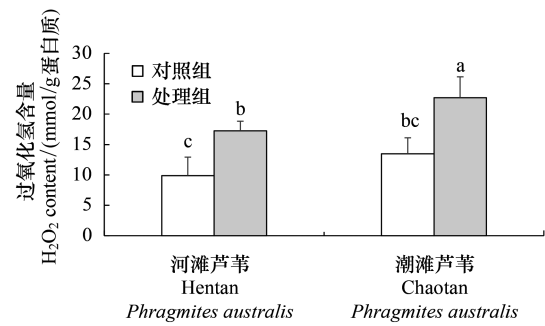


图6 盐胁迫对芦苇叶片 H_2O_2 含量的影响

Fig. 6 Effects of salt stress on the H_2O_2 content in leaves of *Phragmites australis*

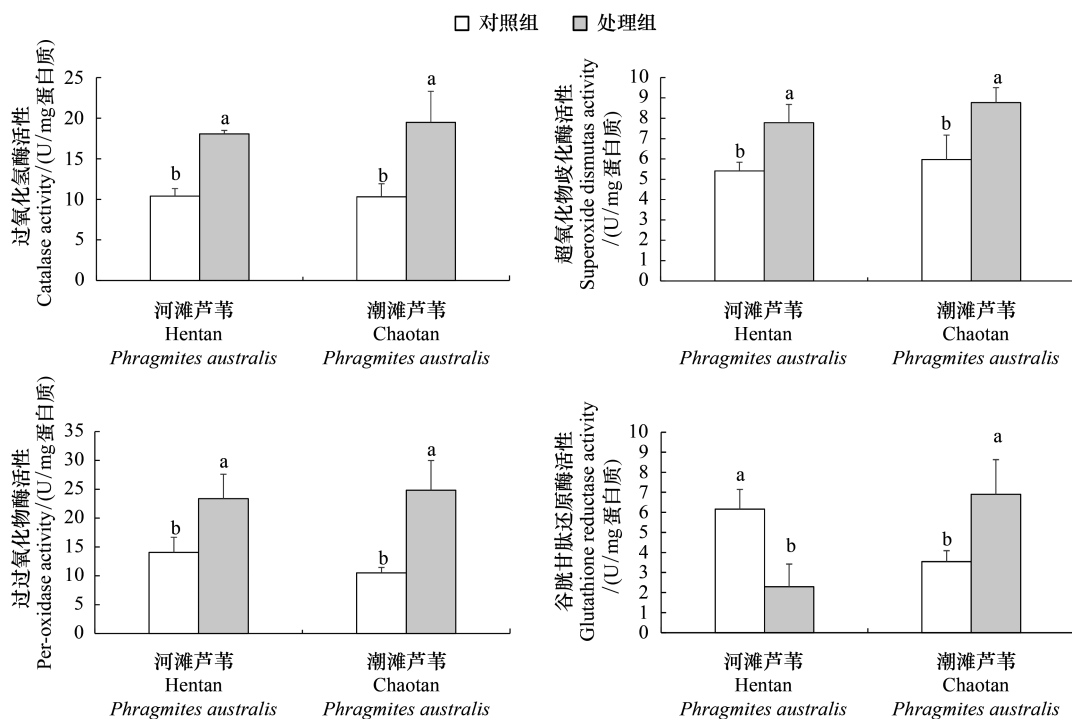


图7 盐胁迫对芦苇叶片过氧化氢酶、超氧化物歧化酶、过氧化物酶和谷胱甘肽还原酶活性的影响

Fig. 7 Effects of salt stress on catalase, superoxide dismutase, per-oxidase, glutathione reductase in leaves of *Phragmites australis*

植物可以通过离子的外排和吸收来实现与外界环境间的离子平衡。盐胁迫环境下, 植物依赖其自身的运输系统将有毒的 Na^+ 排出, 能减少 Na^+ 对植物细胞的伤害^[25]。本研究利用非损伤微测技术测得芦苇根部分生区 Na^+ 离子的流速, 两种生境芦苇在盐胁迫下都呈现出 Na^+ 外排的现象, 且潮滩芦苇流速较高, 表明潮滩芦苇有较强的离子输送能力, 这与孙健^[18]的研究结果类似, 耐盐性强的植物显著高于盐敏感的植物。且结合潮滩芦苇的叶片中 Na^+ 的含量也表明, 也表明潮滩芦苇利用根部的高排 Na^+ 能力, 将芦苇体内过多的 Na^+ 排出, 来维持细胞内的离子平衡, 保证细胞正常代谢, 适应盐胁迫。

光合作用是植物体内主要的代谢过程,而盐胁迫是影响光合作用的因素之一^[26],因此可以利用光合指标和荧光参数来检测盐胁迫下植物的生理反应。本研究表明,两种生境芦苇在盐胁迫条件下的 P_n 、 G_s 、 T_r 均显著低于对照组,且河滩芦苇 P_n 随胁迫时间的延长,降低的幅度也越大,表明河滩芦苇 P_n 对盐分胁迫的响应比潮滩芦苇更敏感。而 C_i 则呈相反的状态,这与许多研究结果类似类似的结论^[27-29]。逆境胁迫下致使光合速率降低的因素主要是气孔因素和非气孔因素^[30],在盐胁迫下两种因素是同时存在的, P_n 、 G_s 、 T_r 降低伴随着 C_i 降低则判定为气孔因素, C_i 上升则为非气孔因素。本研究表明河滩芦苇 P_n 的下降,短期胁迫为(盐胁迫至第 5 天)为气孔因素,随着胁迫时间的延长(胁迫至第 7 天)为非气孔因素导致, C_i 的显著升高为河滩芦苇进行光合作用提供了大量 CO_2 。潮滩芦苇的光合速率下降的原因则为气孔因素,仅关闭部分气孔,降低蒸腾速率以防止水分散失,从而适应盐胁迫。

在正常的环境中,植物会有条不紊的调节光能,并维持正常的生理代谢。而逆境的环境则会打破 PSII 与光合电子需求的平衡^[31],使 $\phi PSII$ 与光合机构受损^[32]。 $\phi PSII$ 是指实际光化学量子产量,较高的 $\phi PSII$ 有利于促进碳同化的运转。光化学猝灭(qP)是指 PSII 天线色素传递电子能力的大小,非光化学猝灭(qN)所反映的是植物将过剩的光能转化为热能的能力,它反映了 PSII 反应中心的开放程度并对光合机构起保护作用^[32]。在本研究中,随着胁迫时间的延长,河滩芦苇的 $\phi PSII$ 、 qP 、 qN 均显著降低,这与洪鑫^[33]对甜菜的研究结果一致,表明盐胁迫河滩芦苇叶片的光合碳同化能力和光能的转换效率降低,电子传递光能的能力减弱。而盐胁迫下潮滩芦苇的 $\phi PSII$ 和 qP 较对照无显著性差异,而 qN 则显著降低,表明盐胁迫对潮滩芦苇影响较小,仅在一定程度上关闭了 PSII 反应中心,降低对光合机构的保护作用。

正常环境下,活性氧的大量产生和清除会处于一个平衡状态^[34]。在盐胁迫环境下会打破该平衡,当活性氧含量过高时,植物的膜脂过氧化会损害细胞膜的稳定性,降低抗氧化的活性,MDA 是膜脂过氧化的产物,其含量的升高会破坏细胞膜系统,损害细胞膜的功能和结构^[35-36]。当活性氧含量升高时,抗氧化系统也会起保护作用,会增加各抗氧化酶的活性,不同的抗氧化酶也有不同的响应方式^[37],各种抗氧化酶之间协同合作共同抵御活性氧带来的伤害^[38]。而 PRO 作为一种渗透物质,对细胞膜和抗氧化酶起保护作用缓解盐胁迫带来的渗透压力。本研究表明,盐胁迫诱导两种生境芦苇 H_2O_2 和 MDA 含量显著升高,并对芦苇细胞膜造成伤害,造成膜脂过氧化。盐胁迫下 CAT、POD 和 SOD 酶活性在两种生境芦苇叶片中均显著升高,表明两种生境芦苇在抵御盐胁迫时,均能启动防御系统,减轻活性氧对细胞的伤害,降低膜脂过氧化^[39],这与许多研究结果类似^[40]。而潮滩芦苇 PRO 含量升高幅度较高,表明潮滩芦苇能积累更多的渗透物质,来保护抗氧化系统,缓解盐胁迫带来的渗透胁迫,这与傅聿青等对桑树 NaCl 处理后,体内的 PRO 含量大量积累一致。GR 的活性在河滩芦苇叶片中有所不同,盐胁迫显著抑制其活性,而在潮滩芦苇叶片中却过度表达,这与很多学者的研究结果类似^[26,41]。植物体内 GR 的表达量能显示出植物叶片中谷胱甘肽的水平,对细胞内谷胱甘肽库处于还原状态的部分起到保护作用^[42],GR 的过度表达能提高植物对氧化胁迫的抗性^[26]。

综上所述,在盐胁迫下河滩芦苇的抗性比潮滩芦苇低,潮滩芦苇比河滩芦苇更能通过调节离子平衡、渗透物质平衡、光合系统和抗氧化系统来适应盐胁迫。潮滩芦苇在抵御盐胁迫时,通过根部高效的排 Na 能力排出过多的 Na^+ ,减轻离子毒害。还通过关闭部分气孔降低蒸腾速率,以减少过多的水分散失,并调节体内抗氧化酶的活性及渗透物质,降低膜脂过氧化,并保护抗氧化酶来缓解盐的毒害适应盐胁迫环境。因此,在滨海湿地盐胁迫环境下,可以将潮滩芦苇作为湿地修复的芦苇品种。

参考文献 (References):

- [1] 朱金方,刘京涛,陆兆华,夏江宝,柳海宁,金悦. 盐胁迫对中国柽柳幼苗生理特性的影响. 生态学报, 2015, 35(15): 5140-5146.
- [2] 胡涛,张鸽香,郑福超,曹钰. 植物盐胁迫响应的研究进展. 分子植物育种, 2018, 16(9): 3006-3015.
- [3] Maathuis F J M, Ahmad I, Patishtan J. Regulation of Na^+ fluxes in plants. *Frontiers in Plant Science*, 2014, 5: 467.
- [4] 徐靖宇. 盐胁迫下野大豆 (*Glycine soja*) 光合特性、离子动态平衡及其相关关系研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2016.
- [5] Gorai M, Ennajeh M, Khemira H, Neffati M. Combined effect of NaCl-salinity and hypoxia on growth, photosynthesis, water relations and solute

- accumulation in *Phragmites australis* plants. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 2010, 205(7): 462-470.
- [6] Liu A, Hu Z R, Bi A Y, Fan J B, Gitau M M, Amombo E, Chen L, Fu J M. Photosynthesis, antioxidant system and gene expression of bermudagrass in response to low temperature and salt stress. *Ecotoxicology*, 2016, 25(8): 1445-1457.
- [7] 王春梅, 张茜, 朱新强, 贺洞杰, 段慧荣, 王晓力. 两种植物在不同生长期控制 Na^+ 流入的差异. *中国草食动物科学*, 2016, 36(5): 39-41.
- [8] 高淳. 盐胁迫下杨树细胞 H^+ 、 K^+ 、 Na^+ 的离子流动与抗盐性研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2007.
- [9] 孙健. 胡杨响应盐胁迫与离子平衡调控信号网络研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2011.
- [10] 刘科, 张丙林, 张文英, 张运波, 田小海. 非损伤离子流检测技术在作物逆境研究中的应用. *应用生态学报*, 2018, 29(2): 678-686.
- [11] 韩鹏, 吴耿, 吴勇泉, 项俊, 余龙江. 芦苇形态结构对黄河三角洲不同生境的响应. *湿地科学*, 2011, 9(2): 185-190.
- [12] 韩美, 张晓慧, 刘丽云. 黄河三角洲湿地研究进展. *生态环境*, 2006, 15(4): 872-875.
- [13] 初小静. 黄河三角洲非潮汐湿地生态系统 CO_2 交换对降雨季节性分配的响应机制[D]. 烟台: 中国科学院烟台海岸带研究所, 2018.
- [14] 韩广轩. 潮汐作用和干湿交替对盐沼湿地碳交换的影响机制研究进展. *生态学报*, 2017, 37(24): 8170-8178.
- [15] 范晓梅, 刘高焕, 唐志鹏, 束龙仓. 黄河三角洲土壤盐渍化影响因素分析. *水土保持学报*, 2010, 24(1): 139-144.
- [16] 邓春暖. 模拟盐碱复合胁迫对芦苇光合生理的影响. *云南师范大学学报: 自然科学版*, 2016, 36(5): 74-78.
- [17] 戚志伟, 姜楠, 高艳娜, 李艳, 王开运, 张超. 崇明岛东滩湿地芦苇光合作用对土壤水盐因子的响应. *湿地科学*, 2016, 14(4): 538-545.
- [18] 单鱼洋. 不同盐度灌溉水对芦苇生长动态和生理特性影响的研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2008.
- [19] 许振伟, 宋慧佳, 李明燕, 张廷靖, 郭霄, Franziska E, Hans B, 杜宁, 侯文轩, 郭卫华. 不同生态型芦苇种群对盐胁迫的生长和光合特性. *生态学报*, 2019, 39(2): 542-549.
- [20] 王宝山, 赵可夫. 小麦叶片中 Na 、 K 提取方法的比较. *植物生理学通讯*, 1995, 31(1): 50-52.
- [21] 毛桂莲, 李国旗, 许兴, 张新学. NaHCO_3 胁迫下 3 种灌木 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 的吸收及转运. *应用生态学报*, 2014, 25(3): 718-724.
- [22] 颜坤, 赵世杰, 徐化凌, 吴丛稳, 陈小兵. 盐胁迫对不同倍性金银花光合特性的影响. *中国农业科学*, 2015, 48(16): 3275-3286.
- [23] 管博, 于君宝, 陆兆华, 张莹, 王雪宏. 黄河三角洲滨海湿地水盐胁迫对盐地碱蓬幼苗生长和抗氧化酶活性的影响. *环境科学*, 2011, 32(8): 2422-2429.
- [24] 常红军, 秦毓茜. 植物的盐胁迫生理. *安阳师范学院学报*, 2006, 5: 149-152.
- [25] 安乐生, 周葆华, 赵全升, 王磊. 黄河三角洲植被空间分布特征及其环境解释. *生态学报*, 2017, 37(20): 6809-6817.
- [26] 陈坚, 李妮亚, 刘强, 钟才荣, 黄敏, 曾佳. NaCl 处理下两种引进红树的光合及抗氧化防御能力. *植物生态学报*, 2013, 37(5): 443-453.
- [27] 张涛, 刘信宝, 李志华, 景戎旋, 董来伟, 喻登丽. NaCl 胁迫对结缕草生长及光合生理的影响. *草地学报*, 2015, 23(3): 539-548.
- [28] 周琦, 祝遵凌. 盐胁迫对鹅耳枥幼苗光合作用和荧光特性的影响. *林业科技开发*, 2015, 29(2): 35-40.
- [29] 孙璐, 周宇飞, 李丰先, 肖木辑, 陶冶, 许文娟, 黄瑞冬. 盐胁迫对高粱幼苗光合作用和荧光特性的影响. *中国农业科学*, 2012, 45(16): 3265-3272.
- [30] Lu Y, Lei J Q, Zeng F J, Zhang B, Liu G J, Liu B, Li X Y. Effect of NaCl -induced changes in growth, photosynthetic characteristics, water status and enzymatic antioxidant system of *Calligonum caput-medusae* seedlings. *Photosynthetica*, 2017, 55(1): 96-106.
- [31] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 2008, 59: 651-681.
- [32] Lu C M, Zhang J H. Role of light in the response of PSII photochemistry to salt stress in the cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51(346): 911-917.
- [33] 洪鑫. 盐碱胁迫对甜菜生长及光合特性的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.
- [34] Tang W, Newton R J. Polyamines reduce salt-induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. *Plant Growth Regulation*, 2005, 46(1): 31-43.
- [35] 宋士清, 刘微, 郭世荣, 尚庆茂, 张志刚. 化学诱抗剂诱导黄瓜抗盐性及其机理. *应用生态学报*, 2006, 17(10): 1871-1876.
- [36] 尚庆茂, 宋士清, 张志刚, 郭世荣. 外源 BR 诱导黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 幼苗的抗盐性. *中国农业科学*, 2006, 39(9): 1872-1877.
- [37] Gill S S, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010, 48(12): 909-930.
- [38] Meloni D A, Oliva M A, Martinez C A, Cambraia J. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 2003, 49(1): 69-76.
- [39] 赵可夫. 植物抗盐生理. 北京: 中国科技出版社, 1993: 25-30.
- [40] 朱玉鹏, 孟祥浩, 盖伟玲, 刘义国, 师长海, 张玉梅, 李玲燕, 林琪. 盐胁迫对冬小麦花后抗氧化酶、渗透调节物质的影响. *中国农学通报*, 2017, 33(19): 1-6.
- [41] Bellaire B A, Carmody J, Braud J, Gossett D R, Banks S W, Lucas C, Fowler T E. Involvement of abscisic acid-dependent and — Independent pathways in the upregulation of antioxidant enzyme activity during NaCl stress in cotton callus tissue. *Free Radical Research*, 2000, 33(5): 531-545.
- [42] Sarkar R K, Mahata K R, Singh D P. Differential responses of antioxidant system and photosynthetic characteristics in four rice cultivars differing in sensitivity to sodium chloride stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2013, 35(10): 2915-2926.