

DOI:10.13332/j.1000-1522.20180438

盐胁迫下白蜡无性系苗期的耐盐性综合评价

闫文华^{1,2} 吴德军¹ 燕丽萍¹ 王因花¹ 任飞¹ 燕琳¹ 刘婕³ 于林霖⁴

(1. 山东省林业科学研究院, 山东省林木遗传改良重点实验室, 山东 济南 250014; 2. 山东农业大学林学院, 山东 泰安 271000;

3. 海阳市招虎山省级自然保护区管理处, 山东 海阳 265100; 4. 海阳市林业局, 山东 海阳 265135)

摘要:【目的】本研究通过对9个白蜡无性系的耐盐性进行综合评价,为探究白蜡无性系的耐盐能力,选育优良耐盐林木品种,利用生物措施提高土地生产力提供理论依据。【方法】以1年生白蜡无性系扦插盆栽苗为试验材料,对9个无性系在不同盐胁迫条件下(0、2、4、6、8 g/L)的生长与生理指标的变化进行研究。【结果】在盐胁迫下,各无性系的生长受到明显抑制,并且随着NaCl质量浓度增大,无性系的生长指标(苗高增量、地径增量、生物量累积)都呈现下降的趋势,无性系YL的下降幅度最为平缓;9个无性系中的叶绿素含量也随着盐质量浓度升高而下降,YL与其他无性系存在显著性差异($P < 0.05$)。盐胁迫导致无性系体内细胞膜透性与MDA含量增大,但在同一盐质量浓度时,无性系YL与Y3低于其他无性系;当盐胁迫逐步增大时,脯氨酸、可溶性糖含量因无性系品种不同而呈现不同的趋势,其中在YL、L5、QB、L2、Y3无性系中一直处于增长状态,在其余4种无性系中呈现单峰曲线,最高值出现在盐质量浓度为6 g/L的处理中;SOD酶活性呈现先升高后下降的趋势,无性系YL酶活性最高,与其他无性系有显著性差异($P < 0.05$)。【结论】本试验采用主成分分析法对9个白蜡无性系的耐盐性进行综合评价,耐盐能力大小依次为YL、Y3、L5、QB、JJ、JN11、HX、L2、J10,试验结果为白蜡耐盐无性系的选育提供理论基础和育种材料。

关键词: 白蜡; 无性系; 盐胁迫; 耐盐性

中图分类号: S728.5 文献标志码: A 文章编号: 1000-1522(2019)11-0044-10

引文格式: 闫文华, 吴德军, 燕丽萍, 等. 盐胁迫下白蜡无性系苗期的耐盐性综合评价 [J]. 北京林业大学学报, 2019, 41(11):44-53. Yan Wenhua, Wu Dejun, Yan Liping, et al. Comprehensive evaluation of salt tolerance of clones of *Fraxinus* spp. seedling stage under salt stress [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2019, 41(11): 44-53.

Comprehensive evaluation of salt tolerance of clones of *Fraxinus* spp. seedling stage under salt stress

Yan Wenhua^{1,2} Wu Dejun¹ Yan Liping¹ Wang Yinhua¹ Ren Fei¹
Yan Lin¹ Liu Jie³ Yu Linlin⁴

(1. Shandong Provincial Academy of Forestry, Shandong Provincial Key Laboratory of Forest Tree Genetic Improvement, Jinan 250014, Shandong, China;

2. College of Forestry, Shandong Agricultural University, Tai'an 271000, Shandong, China;

3. Haiyang Zhaohu Mountain Provincial Nature Reserve Management Office, Haiyang 265100, Shandong, China;

4. Forestry Bureau in Haiyang City, Haiyang 265100, Shandong, China)

Abstract: 【Objective】This paper aims to explore the salt tolerance of ash tree clones, breed excellent salt tolerant of clones, and improve land productivity through biological measures. 【Method】Cutting potted seedlings of 1-year-old ash clones were taken as materials, and their growth and physiological index of 9

收稿日期: 2019-01-03 修回日期: 2019-03-29

基金项目: 山东省农业良种工程项目(2019LZGC009), 山东省重点研发计划项目(2019GNC106143), 林业知识产权转化运用项目(知2017-9)。

第一作者: 闫文华。主要研究方向: 林木遗传育种。Email: 1029412507@qq.com 地址: 271018 山东省泰安市岱宗大街 61 号山东农业大学林学院。

责任作者: 燕丽萍, 博士, 高级工程师。主要研究方向: 林木生物技术。Email: ylp_982@163.com 地址: 250000 山东省济南市历下区文化东路 42 号山东省林业科学研究院。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

clones under different salt stress conditions (0, 2, 4, 6, 8 g/L) were studied. [Result] Under salt stress, the growth of clones was significantly inhibited, and with the increase of NaCl concentration, the growth indicators (seedling height increment, ground diameter increment, biomass accumulation) of clones showed a decreasing trend, and the decline of 'YL' of clones was the slowest; the chlorophyll content of nine clones also decreased with the increase of salt concentration, and there was significant difference between saline wax and other clones ($P < 0.05$). Under salt stress, the cell membrane permeability and MDA content of clones increased, but at the same salt concentration, 'YL' and 'Y3' of clones were lower than those of other clones; when salt stress increased gradually, the contents of proline and soluble sugar showed different trends according to different varieties. Among them, osmotic regulators in 'YL', 'L5', 'QB', 'L2' and 'Y3' had been increasing, the content of the other four clones showed a single peak curve, and the highest value reached 6 g/L. SOD activity increased first and then decreased. Its value of 'YL' was the highest, which was significantly different from that of other clones ($P < 0.05$). [Conclusion] Principal component analysis was used to evaluate the salt tolerance of nine ash tree clones. The salt tolerance of nine ash tree clones was ordered as follows: 'YL', 'Y3', L5', QB, JJ, JN11, HX, 'L2' and 'J10'. The results provided are not only theoretical basis but also breeding materials for the breeding of ash tree salt tolerant clones.

Key words: ash tree; clone; salt stress; salt tolerance

我国已有盐碱土面积为 $3.4 \times 10^7 \text{ hm}^2$, 不包括潜在盐碱土面积 1 700 万 hm^2 ^[1-2], 而且在山东、河北、东北、江苏等地广泛分布。盐渍土中有较高的含盐量, 不仅严重制约农作物生产, 更直接影响植被生长以及整体生态环境质量。尤其随着经济迅速发展, 土地资源减少、耕地面积减小问题日益增长, 盐渍化土地的开发利用可有效增加农林业用地, 同时改善生态环境^[3-4]。由于适宜生活在盐渍土的植物非常有限, 因此, 选育优良耐盐林草品种, 对通过生物措施提高土地生产力具有战略意义。

白蜡树为木犀科(Oleaceae)白蜡属(*Fraxinus*)的总称, 20世纪前期由美国向济南引进, 后期在天津等地大规模推广, 是北方常用的造林树种, 在防护林与城市绿化中都有广泛应用, 具有较高的生态和经济价值。白蜡有适应高 Na^+ 浓度的能力, 在盐胁迫下可以吸收 Na^{+} ^[5], 且研究发现其体内含有泌盐腺体, 叶片内栅栏组织发达^[6], 这些性状可能与耐盐性有关。植物耐盐性与植物体内独特的组织结构有关, 且更大可能是与复杂的生理调节机制相关, 如矿物质的吸收、有机物的积累、蛋白质的合成等, 而脯氨酸、可溶性糖、无机离子、甜菜碱等作为渗透调节物质均参与了植物体的生理调节机制, 研究这些渗透调节物质在盐胁迫条件下的变化规律, 有助于揭示植物的耐盐机理, 为选择较强耐盐能力的植物新品种提供依据。

近年对白蜡的研究较多也备受重视的方向由以往的选择育种、栽培技术改良向生物技术与抗逆性方向发展, 但对于白蜡无性系的耐盐机理研究较少, 报道不多。因此, 本试验以 9 个白蜡无性系为材料,

研究其在盐胁迫环境下的生长指标变化规律与生理特性, 探讨 9 个白蜡无性系抗盐能力与耐盐机理, 为选择较为抗盐的白蜡无性系提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为 9 个无性系白蜡的一年生扦插苗, 分别为京 10(*Fraxinus velutina* 'Jing10', J10)、鲁蜡 2 号 (*Fraxinus velutina* 'Lula2', L2)、鲁蜡 5 号 (*Fraxinus pennsylvanica* 'Lula5', L5)、盐蜡(*Fraxinus velutina* 'Yanla', YL)、盐 3(*Fraxinus velutina* 'Yan3', Y3)、胶南 11(*Fraxinus velutina* 'Jiaonan11', JN11)、金箭(*Fraxinus velutina* 'Jinjian', JJ)、华雄(*Fraxinus velutina* 'Huaxiong', HX)、青碧(*Fraxinus velutina* 'Qinbi', QB)。幼苗来源于山东省林业科学研究院饮马泉苗圃基地, 该基地处于半湿润温带大陆性季风气候区, 季风明显, 四季分明, 雨热同期, 年平均气温 13.8 ℃, 7 月平均气温最高为 27.2 ℃, 年平均降水量 685 mm, 年日照时数 1 870.9 h。

于 2018 年 3 月将扦插苗种植于塑料盆中, 每盆定植 1 株, 花盆规格是 30 cm × 25 cm(高 × 口径)。盆栽内基质是由大地土壤和育苗基质 1:1(体积比)混合均匀, 每盆土壤质量约为 10 kg。植株选择生长健壮, 根系完整的 1 年生扦插苗, 地径约在 4.5 ~ 7.6 cm 内, 无失水损伤等问题。于 2018 年 7 月选取长势基本一致的苗木, 每个无性系 25 株, 置于苗圃基地的遮雨棚下进行试验。

1.2 试验方法

试验采用随机区组设计, 设置 5 个盐分(NaCl)

质量浓度梯度进行处理, NaCl 质量浓度分别为 0(对照)、2、4、6、8 g/L, 每个质量浓度梯度设 5 个重复。试验设置对照组作为处理组数据的参考, 指标增长率为实验组与对照组的比值。试验开始前对每株无性系做控水处理(苗木浇透后自然落干), 自 7 月 23 日起每隔 10 d 在各处理组盆栽中浇 1.5 L 对应浓度的 NaCl 溶液(2、4、6、8 g/L), 对照盆栽中施相等体积的纯净水, 盆底收集渗出液再次浇灌, 期间所有盆栽浇纯净水直至略有水分渗出托盘, 以防止水分流失。胁迫进行 60 d 后取样, 观察植株形态, 每个处理随机选取相同部位的功能叶, 样品分别放入自封袋置于冰壶中带回实验室, 剪碎样品进行生长与生理指标测定。

1.3 指标测定

1.3.1 生长指标

分别测定盐胁迫处理前的无性系苗高(H_0)、地径(B_0), NaCl 胁迫后的苗高(H)、地径(B), $(H - H_0)$ 与 $(B - B_0)$ 即为植株生长指标苗高和地径的增长量。胁迫前每种无性系选取长势相同的参照株用去离子水将整个植株表面清洗干净, 迅速用吸水纸擦干后放于 105 °C 烘箱中, 待无性系植株烘干至恒重时取出称其质量, 试验结束后测定参加试验无性系的质量(不含落叶), 试验末质量减去试验始质量为胁迫间生物累积量。

1.3.2 生理指标

叶绿素采用乙醇萃取法测定^[7]; 细胞膜透性用 DDS-12A 型电导率仪测定; 采用氮蓝四唑(NBT)还原法测定超氧化物歧化酶活性(SOD)^[8]; 测丙二醛

(MDA)含量采用硫代巴比妥酸(TBA)法; 并分别采用茚三酮法与蒽酮法测定脯氨酸含量和可溶性糖含量^[9]。

1.4 数据处理

试验数据运用 Excel 进行整理计算以及图表绘制, 用 SPSS 21.0 软件单因素方差分析、多重比较(Duncan's 法)检验差异显著性。采用数据间相关性以及主成分分析的方法, 最后得到各无性系主成分值(Z_i):

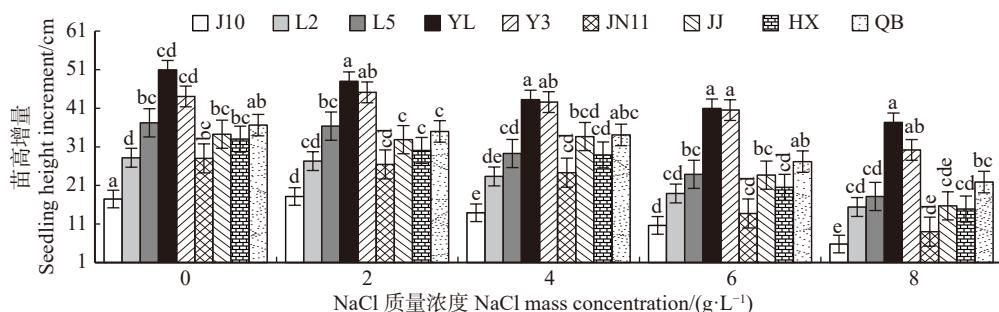
$$Z_i = L_{ij} \times X_n \quad (1)$$

式中: L_{ij} 为主成分荷载, i 表示数据特征, j 表示数据中样本的个数; X_n 为每一水平下的试验指标, 其中 n 表示因子数目。最后运用主成分值评价 9 个无性系在盐胁迫下生理响应差异。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫对白蜡无性系苗高增长量的影响

盐胁迫直接影响植株生长。由图 1 可以发现随着 NaCl 质量浓度的升高, 各无性系苗高增量表现出下降趋势, 并且随着质量浓度升高对幼苗的生长抑制越明显。不同无性系苗高增长量在下降程度上有较大差异, 在最高盐质量浓度处理下, 无性系 J10 与 HX 苗高增长量下降明显, 与对照相比分别下降了 66.8% 和 55.9%; 6 g/L 盐质量浓度下, HX、JJ、JN11、J10 4 个无性系下降幅度较为明显; 低盐质量浓度(2 g/L)时, 各无性系增长量与对照相差不大。无性系 YL 在各盐质量浓度处理下苗高增长量一直保持最高水平, 受盐胁迫影响小, 总降幅为 20.67%。



J10、L2、L5、YL、Y3、JN11、JJ、HX、QB 分别代表京 10、鲁蜡 2 号、鲁蜡 5 号、盐蜡、盐 3、胶南 11、金箭、华雄、青碧。不同小写字母表示同一处理不同无性系间差异显著($P < 0.05$)。下同。J10, L2, L5, Y3, JN11, YL, JJ, HX, QB represent *Fraxinus velutina* 'Jing10', *Fraxinus velutina* 'Lula2', *Fraxinus pennsylvanica* 'Lula5', *Fraxinus velutina* 'Yanla', *Fraxinus velutina* 'Yan3', *Fraxinus velutina* 'Jiaonan11', *Fraxinus velutina* 'Jinjian', *Fraxinus velutina* 'Huaxiong', *Fraxinus velutina* 'Qinbi'. Different letters within the same column indicate significant difference at $P < 0.05$ level. The same as below.

图 1 NaCl 胁迫对苗高增长量的影响

Fig. 1 Effects of NaCl stress on seedling height growth

2.2 NaCl 胁迫对白蜡无性系地径增长量的影响

9 个无性系的地径增长量随着 NaCl 质量浓度增加总体呈现下降趋势(图 2)。各胁迫处理下无性系 YL 的地径增长量最大。在最高 NaCl 质量浓度胁

迫下 J10 与 HX 的地径增长量分别为对照组的 24.4% 与 31.7%, 与 YL 存在显著性差异($P < 0.05$), 其他无性系差异不明显。

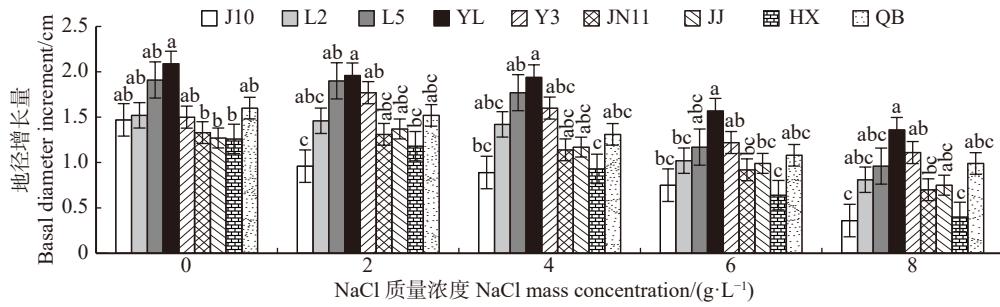


图2 NaCl胁迫对地径增长量的影响
Fig. 2 Effects of NaCl stress on basal diameter increment

2.3 NaCl 胁迫对白蜡无性系生物量的影响

生物量是盐胁迫下植株最直接的反映结果。如图3所示,各无性系在低盐(2 g/L)处理下与对照组相比,生物量累积值变化不明显,在6 g/L盐质量浓度处理下无性系植株总体生物累积量有明显的下降。在最高盐质量浓度(8 g/L)处理下,无性系

J10的生物量累积值只有对照组的24.7%,而无性系YL与Y3累积量与对照组的比值分别为66.9%、68.1%,表现出显著性差异($P < 0.05$)。在整个试验中,YL生物量累积值一直处于最高水平,Y3次之,两者之间无显著性差异,都表现出耐盐性。

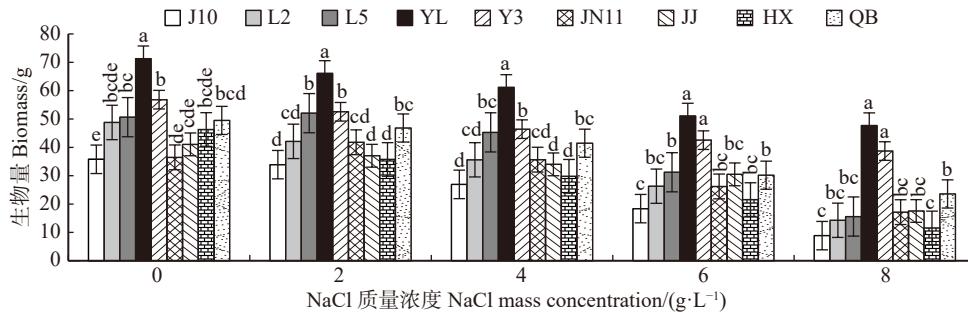


图3 NaCl胁迫对生物量的影响
Fig. 3 Effects of NaCl stress on biomass

2.4 NaCl 胁迫对白蜡无性系细胞膜透性的影响

细胞膜透性增大表明质膜受到伤害的程度较高,如表1所示,各无性系随着盐质量浓度增大电导率均呈上升趋势。在对照组中,各无性系相对电导率差异性不显著;在低质量浓度(2 g/L)下总体平缓

增长,QB、J10、HX 3 个无性系较其他无性系而言增长幅度较大;在 6 g/L 质量浓度处理下总体增幅变大,最高质量浓度处理下无性系 J10 与 HX 的增幅较高,分别为 134% 与 108%,无性系 Y3 增幅小,膜透性较低,与以上 2 个无性系有显著性差异($P < 0.05$)。

表1 NaCl 胁迫下各无性系细胞膜透性

Tab. 1 Effects of NaCl stress on membrane permeability of clones

无性系 Clone	NaCl 质量浓度 NaCl mass concentration				
	0 g/L	2 g/L	4 g/L	6 g/L	8 g/L
L2	34.25 ± 7.23abc	39.62 ± 1.28b	44.49 ± 3.11bc	49.22 ± 3.3b	53.21 ± 5.38cde
YL	33.52 ± 1.07bc	36.52 ± 1.08b	38.30 ± 1.35d	40.63 ± 1.87bc	42.89 ± 2.61e
L5	35.00 ± 0.55ab	47.34 ± 0.83a	51.33 ± 1.78ab	56.00 ± 2.72a	60.25 ± 4.42bcd
J10	30.41 ± 7.72c	45.92 ± 9.68a	54.07 ± 12.23a	61.87 ± 15.01a	71.36 ± 19.94a
QB	36.69 ± 1.12a	49.63 ± 1.96a	53.88 ± 3.13a	58.92 ± 4.59a	64.00 ± 7.08abc
JN11	27.46 ± 0.79c	30.80 ± 0.88c	35.00 ± 3.08d	39.55 ± 3.26c	44.21 ± 4.75e
JJ	33.60 ± 0.82bc	46.56 ± 2.93a	51.18 ± 3.38abc	54.23 ± 3.73a	57.97 ± 5.10bcd
HX	32.19 ± 1.19bc	49.38 ± 4.34a	55.38 ± 6.84a	61.47 ± 9.84a	67.18 ± 10.92ab
Y3	27.66 ± 1.22c	40.52 ± 2.97b	43.87 ± 2.46cd	46.67 ± 3.80b	49.85 ± 2.24de

注: 同列中字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。下同。Notes: different letters within the same column indicate significant difference at $P < 0.05$ level. The same as below.

2.5 NaCl 胁迫对白蜡无性系 MDA 含量的影响

细胞膜受破坏程度同样可以用 MDA 含量表示,从表 2 中可以看出其增长趋势与细胞膜透性大体一致。与对照相比,在最高盐质量浓度处理下所有无性系的 MDA 含量均增加,J10 叶片中含量最高,多重比较分析发现与其他无性系有显著性差异。

表 2 NaCl 胁迫下各无性系 MDA 含量

Tab. 2 MDA content of clones under NaCl stress

无性系 Clone	NaCl 质量浓度 NaCl mass concentration				
	0 g/L	2 g/L	4 g/L	6 g/L	8 g/L
L2	1.84 ± 0.26abc	1.9 ± 0.24ab	2.21 ± 0.49ab	2.42 ± 0.23ab	2.75 ± 0.18bc
YL	1.43 ± 0.19bc	1.57 ± 0.4b	1.8 ± 0.36b	2.01 ± 0.19b	2.19 ± 0.49cd
L5	1.8 ± 0.18abc	2.21 ± 0.1ab	2.41 ± 0.28ab	2.51 ± 0.43ab	2.91 ± 0.71bc
J10	2.32 ± 0.32a	2.38 ± 0.41a	2.71 ± 0.6a	3.11 ± 0.51a	3.69 ± 0.33a
QB	1.39 ± 0.26c	1.81 ± 0.44ab	2.21 ± 0.49ab	2.52 ± 0.46ab	1.92 ± 0.4d
JN11	1.61 ± 0.21bc	2.05 ± 0.42ab	2.13 ± 0.46ab	2.42 ± 0.51ab	2.49 ± 0.81bcd
JJ	1.67 ± 0.41bc	2.05 ± 0.42ab	2.23 ± 0.45ab	2.29 ± 0.63b	1.8 ± 0.53d
HX	2.02 ± 0.51ab	2.16 ± 0.81ab	2.37 ± 0.81ab	2.75 ± 0.66ab	3.11 ± 0.47ab
Y3	1.64 ± 0.84bc	1.88 ± 0.37ab	2.29 ± 0.64ab	2.02 ± 0.76b	1.94 ± 0.68d

2.6 NaCl 胁迫对白蜡无性系叶绿素含量的影响

NaCl 胁迫会造成白蜡无性系叶片中叶绿素含量的下降,不同无性系下降程度不同(表 3)。盐胁迫影响叶细胞超微结构中的细胞膜系统与叶细胞器,其中叶绿体最敏感。以无性系 YL 为例,在不同盐

($P < 0.05$),膜脂过氧化程度高。在 8 g/L 质量浓度处理下,JJ 无性系 MDA 含量最低,且 QB、JJ、Y3 无性系含量出现不同程度的上升,与 6 g/L 质量浓度下相比分别上升了 23.81%、21.39%、3.96%,可能是无性系体内酶活性升高减轻了细胞膜的氧化程度。

表 2 NaCl 胁迫下各无性系 MDA 含量

Tab. 2 MDA content of clones under NaCl stress

量浓度处理下叶绿素含量均显著高于其他无性系,但与对照相比分别下降 19%、26%、30%、37%。无性系 J10,在不同盐质量浓度处理下叶绿素含量较低,与对照相比分别下降了 8%、23%、35%、51%,在盐质量浓度达到较高水平时,下降幅度增大。

表 3 NaCl 胁迫下各无性系叶绿素含量

Tab. 3 Chlorophyll content of clones under NaCl stress

无性系 Clone	NaCl 质量浓度 NaCl mass concentration				
	0 g/L	2 g/L	4 g/L	6 g/L	8 g/L
L2	8.35 ± 1.17def	7.03 ± 1.28cde	6.48 ± 0.94bcd	5.64 ± 2.53b	4.93 ± 2.77bc
YL	12.02 ± 1.45a	9.68 ± 0.56a	8.82 ± 1.00a	8.33 ± 1.22a	7.51 ± 1.64a
L5	9.41 ± 0.13bc	9.01 ± 1.12ab	7.69 ± 0.62ab	6.53 ± 0.87ab	5.65 ± 0.72abc
J10	7.59 ± 0.50f	6.91 ± 0.88cde	5.78 ± 0.68cd	4.92 ± 2.16b	3.69 ± 1.6c
QB	8.85 ± 0.34cd	8.46 ± 1.75abc	7.65 ± 1.91ab	6.69 ± 1.63ab	5.58 ± 1.8abc
JN11	7.73 ± 0.61ef	6.46 ± 1.48de	6.18 ± 1.87bcd	5.39 ± 1.18b	4.08 ± 0.97bc
JJ	8.65 ± 0.65cde	7.9 ± 1.49bcd	6.66 ± 1.56bcd	5.92 ± 2.68b	5.55 ± 2.33abc
HX	8.12 ± 0.33def	6.22 ± 1.3e	5.34 ± 0.47d	5.1 ± 1.63b	4.44 ± 1.12bc
Y3	10.22 ± 0.52b	8.02 ± 0.9bcd	7.31 ± 1.16abc	6.62 ± 0.98ab	6.05 ± 1ab

2.7 NaCl 胁迫对白蜡无性系脯氨酸与可溶性糖含量的影响

试验显示对照中各无性系脯氨酸与可溶性糖含量变化比较平缓,并无显著差异,当 NaCl 质量浓度升高时调节物质在植株体内的含量呈正相关增加,在达到一定质量浓度(8 g/L)时,不同白蜡无性系品种有不同的趋势,如图 4 所示。无性系 JJ、J10、JN11、

HX 在盐质量浓度为 6 g/L 时,脯氨酸与可溶性糖含量达到最大值,盐质量浓度再升高时含量便出现下降趋势,这可能是由于盐质量浓度过高导致渗透调节物质合成受阻。可溶性糖与脯氨酸在植物体内发挥相同的作用,其变化趋势大体一致,其余 5 个无性系随 NaCl 质量浓度升高均呈现上升趋势,YL 中与可溶性糖含量均最低,分别是对照的 2.9 倍与 2.7 倍。

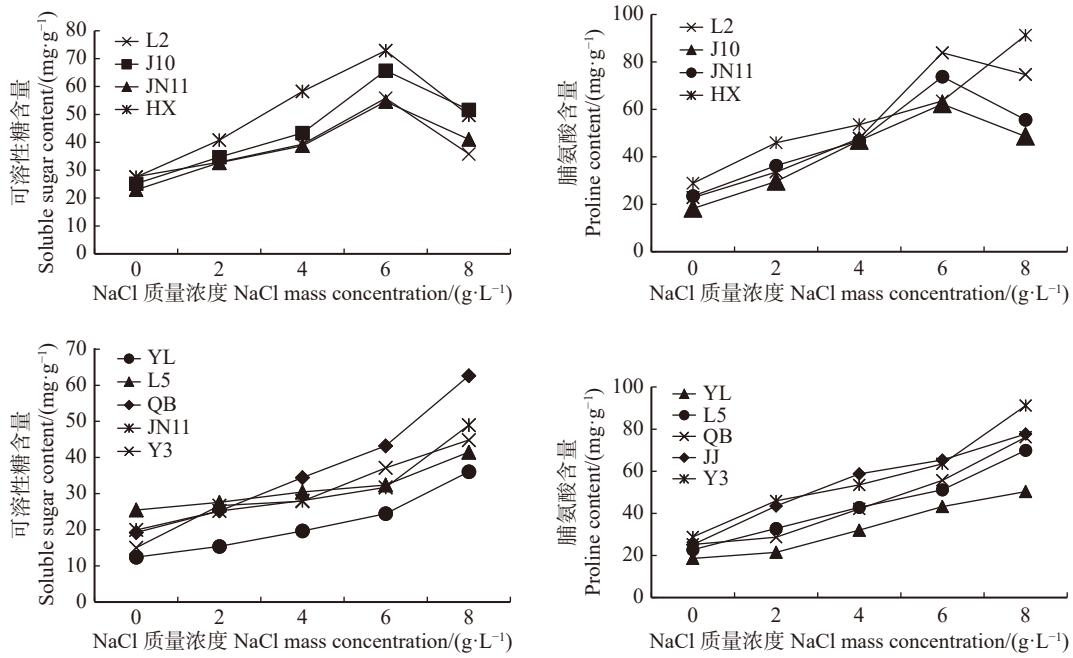


图 4 NaCl 胁迫对可溶性糖与脯氨酸含量的影响
Fig. 4 Effects of NaCl stress on the contents of soluble sugar and proline

2.8 NaCl 胁迫对白蜡无性系过氧化物酶的影响

9个白蜡无性系中的 SOD 活性均随盐胁迫增大呈现先增大后减小的趋势(表 4), 增幅因无性系而异。各无性系在无盐处理时酶活性低, 在盐质量浓度为 6 g/L 时活性最高, 增幅最高的是无性系 J10 (114.5%) 与 JJ(99.1%), 增幅较小的无性系是 YL

(29.3%), 但无性系 YL 在各盐质量浓度下酶活性均较高, 与其他无性系表现出显著差异($P < 0.05$)。当盐质量浓度增大到 8 g/L 时, 各无性系 SOD 酶活性均出现下降趋势, 表明 6~8 g/L 的盐质量浓度可能是白蜡无性系最高耐盐范围, 当超过该范围时, 植物通过自身调节不能维持体内机制的平衡。

表 4 NaCl 胁迫下各无性系 SOD 活性

Tab. 4 SOD Activity of clones under NaCl stress

无性系 Clone	NaCl 质量浓度 NaCl mass concentration				
	0 g/L	2 g/L	4 g/L	6 g/L	8 g/L
L2	83.99 ± 24.68cd	121.06 ± 19.89cd	140.23 ± 7.37cd	167.16 ± 28.4cd	83.45 ± 17.44c
YL	234.03 ± 26.86a	244.35 ± 22.03a	292.56 ± 19.37a	304.28 ± 21.34a	241.9 ± 12.16a
L5	126.71 ± 24.6bc	185.51 ± 25.11b	170.24 ± 21.33bcd	211.15 ± 7.25bc	115.48 ± 17.42bc
J10J	67.72 ± 18.02d	103.07 ± 16.84d	127.32 ± 14.95d	145.27 ± 20.24cd	74.6 ± 22.91c
QB	130.01 ± 28.94bc	159.21 ± 29.53bcd	199.07 ± 25.05bc	214.86 ± 36.12bc	158.42 ± 23.05b
JN11	118.63 ± 18.99bcd	149.76 ± 12.91bcd	168.7 ± 33.15bcd	182.17 ± 21.41bcd	111.09 ± 18.25bc
JJ	110.05 ± 12.18cd	120.79 ± 11.73cd	149.78 ± 26.15cd	162.21 ± 11.65cd	107.76 ± 19.77bc
HX	72.43 ± 11.81d	103.17 ± 11.91d	133.1 ± 18.72cd	128.57 ± 17.43d	66.17 ± 27.41c
Y3	104.26 ± 5.23b	136.92 ± 15.26bc	158.03 ± 16.65b	174.04 ± 12.59ab	105.59 ± 18.07b

2.9 相关性分析

将 9 个白蜡无性系在所有盐胁迫处理下的各项指标进行相关性分析, 结果如表 5。SOD 与地径增量、生物量、叶绿素、脯氨酸、可溶性糖、细胞膜透性均呈极显著相关, 其中与细胞膜透性和 MDA 活性呈极显著正相关, 其余各指标均为极显著负相关。叶绿素与生长指标呈极显著正相关, 并分别与细胞

膜透性、MDA 与 SOD 呈极显著负相关; MDA 是膜脂过氧化的产物, 由表 5 可以看出, 细胞膜透性与 MDA 之间呈极显著正相关; 脯氨酸与可溶性糖是植物中重要的渗透调节物质, 两者呈极显著正相关。总体而言, 生长指标与生理指标变化紧密联系, 受到盐胁迫时, 植物不仅表现在生长量下降, 还通过调节自身体内各种物质含量以维持机体正常运行。因

表 5 NaCl 胁迫下白蜡无性系各指标间相关性分析

Tab. 5 Correlation analysis of various indicators of clones to NaCl stress

指标 Index	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8	X_9
X_1	1								
X_2	0.883**	1							
X_3	0.661**	0.644**	1						
X_4	0.551**	0.552**	0.493**	1					
X_5	-0.086	-0.129	-0.189*	-0.605**	1				
X_6	-0.315*	-0.272	-0.168	-0.873**	0.607**	1			
X_7	-0.292**	-0.238	-0.288*	-0.845*	-0.759**	0.873**	1		
X_8	-0.538**	-0.459**	0.530**	0.266*	-0.125	0.191	0.349	1	
X_9	-0.485*	-0.445**	-0.392**	-0.745**	0.618**	-0.646**	-0.689**	0.867**	1

注: X_1 . 苗高增量; X_2 . 地径增量; X_3 . 生物量; X_4 . 叶绿素; X_5 . 细胞膜透性; X_6 . 丙二醛; X_7 . 脯氨酸; X_8 . 可溶性糖; X_9 . 超氧化物歧化酶活性(SOD)。下同。**表示在 $P < 0.01$ 水平上差异极显著, *表示在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。Notes: X_1 , height increment; X_2 , basal diameter increment; X_3 , biomass; X_4 , chlorophyll; X_5 , membrane permeability; X_6 , MDA; X_7 , proline; X_8 , soluble sugar; X_9 , SOD. The same below. ** indicates significant difference at $P < 0.01$ level, * indicates significant difference at $P < 0.05$ level.

此,不能将某一指标作为衡量植物耐盐的依据,应将生长指标与生理指标结合分析,对无性系耐盐性进行综合评价。

2.10 主成分分析

在盐胁迫条件下,植物生长与生理指标均有所差异,利用单个指标对植物耐盐性进行评价会产生较大偏差,本研究对各自蜡无性系的9个指标进行主成分分析,结果表明(表6),成分值越大,该指标在评价植物耐盐性方面的可信度更高。在盐质量浓度为6 g/L时,第一主成分与第二主成分累积贡献率为83.822%,可知在此质量浓度下,第一主成分包含的指标为苗高增量、地径增量、生物量、MDA含量、SOD活性、叶绿素含量等,并且这6个指标各成分

值均在0.8以上,;第二主成分包含的指标主要是细胞膜透性、可溶性糖等。最高盐胁迫(8 g/L)处理下,第一主成分贡献率为63.318%,前3主成分累计贡献率达到87.371%,大于80%,其中第一主成分的各项指标与6 g/L质量浓度下的指标相一致,而第二主成分包含的指标主要有细胞膜透性、脯氨酸、可溶性糖等。综合以上各指标与所对应成分值分析白蜡无性系耐盐强弱的结果通过数值表示(表7)。结果显示,耐盐性强弱依次为YL、Y3、L5、QB、JJ、JN11、HX、L2、J10。

3 讨论

植物生长对盐胁迫较为敏感,它直接影响植物

表 6 NaCl 胁迫下无性系各指标主成分分析

Tab. 6 Principal component analysis of clones under salt stress

测定指标 Measured index	主成分 Principal components				
	6 g/L		8 g/L		
	Prin1	Prin2	Prin1	Prin2	Prin3
特征值 Characteristic value	6.313	1.231	5.789	1.131	0.764
累计贡献率 Cumulative contribution rate/%	70.142	83.822	64.318	78.884	87.371
苗高增量 Height increment	0.860	0.202	0.902	0.285	0.246
地径增量 Basal diameter increment	0.917	0.157	0.902	0.285	0.246
生物量 biomass	0.885	0.017	0.971	-0.021	0.125
叶绿素 Chlorophyll	0.973	0.166	0.917	0.126	-0.028
细胞膜透性 Membrane permeability	-0.629	0.752	-0.770	0.314	0.261
脯氨酸 Proline	-0.704	-0.617	-0.669	0.526	0.213
可溶性糖 Soluble sugar	-0.775	0.246	-0.452	0.753	0.207
超氧化物歧化酶 SOD	0.915	0.032	0.867	0.068	-0.045
丙二醛 MDA	0.819	-0.360	0.618	-0.430	-0.622

表 7 主成分值

Tab. 7 Principal component value

项目 Item	L2	YL	L5	J10	QB	JN11	JJ	HX	Y3
6 g/L 主成分值 6 g/L Principal component value	-6.711	32.625	11.186	-3.325	10.766	-1.189	1.674	-2.495	11.259
8 g/L 主成分值 8 g/L Principal component value	6.325	35.632	11.980	-1.233	10.054	9.738	7.510	2.499	12.459
平均值 Average value	-0.193	34.128	11.583	-2.279	10.410	4.275	4.592	0.002	11.859
排序 Sort	8	1	3	9	4	6	5	7	2

的生长发育^[10]。胁迫试验后发现, J10、HX 无性系出现 3~4 片落叶, JN11 与 JJ 无性系叶片出现盐害现象, 叶缘发黄扭曲, 其他无性系盐害现象不明显。

植株生长指标在盐胁迫时会有显著变化, 因此植物的生长量是评价耐盐性最直接的指标^[10]。本试验以苗高、地径增长量为生长指标, 发现随着 NaCl 浓度升高, 9 个白蜡无性系增长量均下降, 在低盐质量浓度(2、4 g/L)下, 下降幅度较小; NaCl 质量浓度达到 6 g/L 时, 降幅有所增加; 在质量浓度为 8 g/L 时降幅最大, 分别达到 47.3%、47.5%, 与对照组存在明显差异。此结果说明低盐质量浓度对白蜡无性系影响较小, 对植株造成的伤害不明显, 这与刘海曼等^[11]对苗高地径增长量与盐质量浓度关系的研究结果基本一致, 即白蜡无性系在 2 g/L 质量浓度下, 与对照相比苗高地径增长量会有一定的下降, 但随盐质量浓度增大, 下降幅度变化不明显, 在 8 g/L 盐胁迫处理下叶片出现毒害症状。生物量累积量同样作为测定植物生长的指标, 反应植株生长变化, 并且随盐质量浓度增大, 生物量的积累与苗高增长量变化一致。说明高质量浓度盐分直接影响植株生长, 无性系 Y3 在测定的所有生长指标中降幅相对较小, 受盐胁迫伤害程度低。

植物生长变化特征还可从叶绿素含量指标中反映, 盐胁迫会抑制植物生长过程中的光合作用, 从而影响叶绿素含量, 造成植物体内叶绿素含量下降^[12~13]。本试验中所有无性系植株的叶绿素含量均随盐质量浓度增大而降低, 但降幅不一。无性系 YL 在高盐质量浓度时下降幅度无明显变化, 无性系 J10 随着 NaCl 质量浓度升高, 增幅明显升高, 最高盐处理下达到 51%, 这可能是无性系植株受到盐胁迫, 色素系统被破坏导致叶绿素含量急剧减少^[14], 该结果与李淑娟^[15]在研究混合胁迫对白蜡的影响中得到的结果大体一致。

植物细胞膜系统受到盐胁迫时通过影响膜脂与膜蛋白引起膜脂过氧化, 使细胞膜透性增大, 破坏膜结构从而影响细胞膜正常的功能, 使正常接触的细胞壁与质膜变形, 造成细胞内电解质外渗, 导致电导率的增大^[16]。并且随着盐胁迫增加, 细胞膜

相对透性呈上升趋势^[17]。研究表明, NaCl 质量浓度越高, 相对电导率值增加幅度越大, 在 8 g/L 质量浓度下, 细胞膜透性较其他盐质量浓度有显著增大。MDA 含量与膜透性显著相关^[18], 作为受到盐害时细胞膜的氧化产物, 其含量与细胞膜透性变化趋势一致。试验研究表明, 丙二醛含量也随着盐质量浓度上升而增高, 且增长幅度跟盐浓度呈正比, 即高盐质量浓度下涨幅大。植物细胞膜在盐胁迫处理下的受损程度可以用相对细胞膜透性表示, 相对电导率小反映该品种受到伤害的程度低^[19]。本研究中, 在高盐胁迫下, 无性系 YL 与 Y3 相对膜透性低, 耐盐能力强于其他无性系。

在盐胁迫处理时, 植物体内的抗氧化平衡机制被打破, 自身会产生清除氧自由基的物质^[20]。超氧化物歧化酶(SOD)与过氧化物酶(POD)作为细胞膜系统内抗氧化酶, 其活性增加能够降低膜脂过氧化水平, 清除体内过多活性氧^[21]。本试验显示, 盐胁迫后对照组 SOD 活性与处理组的差异显著, 对照组 SOD 活性低, 变化不明显, 其余 4 个处理组的 SOD 活性有明显提高并且各无性系增幅不同。POD 活性变化趋势与 SOD 相同, SOD 活性总体呈现先升高再降低的趋势, 研究结果与刘翠兰等^[14]的研究结果一致, 随着盐质量浓度增大, SOD 活性增强, 减轻细胞膜系统氧化损伤, 当 NaCl 质量浓度达到 8 g/L 时, SOD 活性下降, 表明植物体内酶合生受到抑制, 酶合成机制无法达到平衡^[22]。

渗透调节是植物对抗逆境最基础的方式, 而可溶性糖与脯氨酸又是最基础的渗透调节物质, 不仅维持渗透压平衡改善植物体内微环境, 还可以作为评价植物耐盐性差异的指标^[23~24]。本试验中, 9 个无性系的脯氨酸与可溶性糖含量随盐质量浓度增高表现出不同的趋势, 4 个无性系(L2、J10、JN11 与 HX)渗透物质含量先增高后降低, 其余无性系呈现一致上升的趋势。表明植物受到盐胁迫时, 体内会合成大量脯氨酸与可溶性糖等渗透调节物质来减轻逆境造成的伤害^[25]。但当盐质量浓度达到最高(8 g/L)时, 脯氨酸与可溶性糖含量有下降趋势, 表明这些无性系品种无法承受高盐胁迫而使自身调

解能力遭到破坏^[26]。

耐盐性是植物为了适应环境而引起自身生长生理指标变化从而形成的对抗逆境的机制^[27]。本试验是以一年生盆栽自根苗为试材,无性系扦插苗保留原有的生理生长状态,与嫁接苗相比,可以更好地反应该无性系的抗逆能力,一年生苗木抗性差,说明该无性系的耐盐特性较差。分析上述9个白蜡无性系的耐盐性,考虑生长与生理两方面的指标,植物生长受多方面影响,是多种因子共同作用的结果,采用主成分分析的方法,在综合评价函数中,消除评价指标之间的相关影响,各主成分的贡献率反映了该主成分包含原始数据比重,客观的、合理的克服了某些评价方法中确定权数的缺陷,通过各无性系平均成分值综合评价得出耐盐性结果。

本试验可以在一定程度上反映出幼苗期不同白蜡无性系耐盐能力,全面总结白蜡无性系植株不同生长时期的耐盐性还需进一步验证。

参 考 文 献

- [1] 张建锋. 盐碱地生态修复原理与技术 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2008: 36.
- Zhang J F. Principle and technology of ecological restoration of saline-alkali land[M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2008: 36.
- [2] 孙广玉. 盐碱土上马蔺的渗透调节和光合适应性研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- Sun G Y. Studies on osmotic adjustment and photosynthetic adaptability of *Iris lactea* on saline-alkali soil[D]. Beijing: China Agricultural University, 2005.
- [3] 赵可夫, 范海, 王宝增, 等. 改良和利用盐渍化土壤的研究进展 [J]. 园林科技信息, 2004(1): 32–35.
- Zhao K F, Fan H, Wang B Z, et al. Advances in the improvement and utilization of saline soil[J]. Landscape Science and Technology Information, 2004(1): 32–35.
- [4] 张华新, 宋丹, 刘正祥. 盐胁迫下11个树种生理特性及其耐盐性研究 [J]. 林业科学, 2008, 21(2): 168–175.
- Zhang H X, Song D, Liu Z X. Study on physiological characteristics and salt tolerance for seeding of 11 tree species[J]. Forestry Science Research, 2008, 21(2): 168–175.
- [5] 刘桂民, 尹国良, 王振猛, 等. 白蜡优良无性系的抗逆性能评价 [J]. 中国农学通报, 2012, 28(28): 34–38.
- Liu G M, Yin G L, Wang Z M, et al. Stress tolerance evaluation of superior clones of *Fraxinus chinensis*[J]. Chinese Agriculture Science Bulletin, 2012, 28(28): 34–38.
- [6] 孟康敏. 绒毛白蜡等树种耐盐力研究 [J]. 辽宁林业科技, 1999(3): 43–45, 47.
- Meng K M. Study on the salt tolerance of *Fraxinus velutina* et al[J]. Liaoning Forestry Science and Technology, 1999(3): 43–45, 47.
- [7] 赵世杰, 刘华山, 董新纯. 植物生理实验指导 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 152–154.
- Zhao S J, Liu H S, Dong X C. Guide to plant physiology experiment[M]. Beijing: China Agricultural Publishing House, 1997: 152–154.
- [8] 郝建军, 康宗利, 于洋. 植物生理学实验技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 45–48.
- Hao J J, Kang Z L, Yu Y. Plant physiology[M]. Beijing: Chemical Industry Publishing House, 2007: 45–48.
- [9] 李合生, 孙群, 赵世杰. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 134–137.
- Li H S, Sun Q, Zhao S J. Experimental principles and techniques of plant physiology and biochemistry[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 134–137.
- [10] 孙海菁, 王树凤, 陈益泰. 盐胁迫对6个树种的生长及生理指标的影响 [J]. 林业科学, 2009, 22(3): 315–324.
- Sun H J, Wang S F, Chen Y T. Effects of salt stress on growth and physiological indexes of 6 tree species[J]. Journal of Forestry Research, 2009, 22(3): 315–324.
- [11] 刘海曼, 封晓辉, 刘毅, 等. 绒毛白蜡对NaCl胁迫的生理响应 [J]. 北方园艺, 2016(10): 70–75.
- Liu H M, Feng X H, Liu Y, et al. Physiological response of *Fraxinus* to NaCl stress[J]. Northern Horticulture, 2016(10): 70–75.
- [12] 王振猛, 李永涛, 杨庆山, 等. 绒毛白蜡不同无性系光合特性的研究 [J]. 农业与技术, 2015, 35(1): 1–3, 10.
- Wang Z M, Li Y T, Yang Q S, et al. Studies on photosynthetic characteristics of different *Fraxinus* clones[J]. Agriculture and Technology, 2015, 35(1): 1–3, 10.
- [13] 吴永波, 薛建辉. 盐胁迫对3种白蜡树幼苗生长与光合作用的影响 [J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2002, 26(3): 19–22.
- Wu Y B, Xue J H. Impacts of stress on the growth and photosynthesis of three *Fraxinus* species[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Science Edition), 2002, 26(3): 19–22.
- [14] 刘翠兰, 吴德军, 王开芳, 等. NaCl胁迫下白蜡杂交苗的生长与生理响应 [J]. 中国农学通报, 2016, 32(28): 16–21.
- Liu C L, Wu D J, Wang K F, et al. Growth and physiological responses of hybrid seedlings of *Fraxinusto* NaCl stress[J]. Chinese Agriculture Science Bulletin, 2016, 32(28): 16–21.
- [15] 李淑娟, 詹亚光, 杨传平, 等. 混合盐胁迫对引种绒毛白蜡生长及相关生理指标的影响 [J]. 东北林业大学学报, 2010, 38(1): 15–17.
- Li S J, Zhan Y G, Yang C P, et al. Effect on growth and physiological indices of introduced species of *Fraxinus velutina* under mixed salt stress[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2010, 38(1): 15–17.
- [16] 于金平, 俞珊, 梁有旺, 等. NaCl胁迫对美国白蜡幼苗部分生理指标的影响 [J]. 植物资源与环境学报, 2014, 23(1): 110–112.
- Yu J P, Yu S, Liang Y W, et al. Effects of NaCl stress on some physiological indexes of *Fraxinus americana* seedlings[J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2014, 23(1): 110–112.

- [17] Mckay H M, Mason W L. Physiological indicators of tolerance to cold storage in Sitka spruce and Douglas-fir seedlings[J]. *Canadian Journal Forest Research*, 1991, 21(6): 890–901.
- [18] 陈少裕. 膜脂过氧化与植物逆境胁迫[J]. 植物生理学通讯, 1989, 6(4): 211–217.
Chen S Y. Membrane lipid peroxidation and plant stress[J]. *Plant Physiology Communication*, 1989, 6(4): 211–217.
- [19] 陶晶. 东北主要杨树抗盐机理及抗性品种选育的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2002.
Tao J. Main research on salt-resistant mechanism and selection of salt-resistant varieties of poplar[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2002.
- [20] 李敏, 张健, 李玉娟, 等. 植物耐盐生理及耐盐基因的研究进展[J]. *江苏农业科学*, 2012, 40(10): 45–48.
Li M, Zhang J, Li Y J, et al. Advances in plant salt-tolerant physiology and salt-tolerant genes[J]. *Agricultural Sciences in Jiangsu*, 2012, 40(10): 45–48.
- [21] Dionisio S, Tobita M L. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress[J]. *Plant Science*, 1998, 135(1): 1–9.
- [22] 杨升, 刘正祥, 张华新, 等. 3个树种苗期耐盐性综合评价及指标筛选[J]. *林业科学*, 2013, 49(1): 91–98.
Yang S, Liu Z X, Zhang H X, et al. Comprehensive evaluation of salt tolerance and screening identification index for three tree species[J]. *Forestry Science*, 2013, 49(1): 91–98.
- [23] Anamul H M, Eiji O, Mst N A B, et al. Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164(5): 553–561.
- [24] Wided M, Nader B A, Ahmed D, et al. Salt tolerance of the annual halophyte Cakile maritima as affected by the provenance and the developmental stage[J]. *Acta Physiol Plant*, 2007, 29(4): 375–384.
- [25] 林栖凤, 李冠一. 植物耐盐性研究进展[J]. *生物工程进展*, 2000, 20(2): 20–25.
Lin Q F, Li G Y. Research progress in salt tolerance of plants[J]. *Advances in Bioengineering*, 2000, 20(2): 20–25.
- [26] 汤章城. 逆境条件下植物脯氨酸的累积及其可能意义[J]. 植物生理学通讯, 1984(1): 15–21.
Tang Z C. Accumulation and possible significance of plant proline under stress[J]. *Plant Physiology*, 1984(1): 15–21.
- [27] 杨传宝, 倪惠簪, 李善文, 等. 白杨派无性系苗期对 NaHCO_3 胁迫的生长生理响应及耐盐渍性综合评价[J]. 植物生理学报, 2016, 52(10): 1555–1564.
Yang C B, Ni H Q, Li S W, et al. Growth and physiological response to NaHCO_3 stress, salt tolerance and comprehensive evaluation of *Populus* clones at seedling stage[J]. *Plant Physiology*, 2016, 52(10): 1555–1564.

(责任编辑 崔艳红
责任编委 马履一)