

文章编号:2095-6134(2021)02-0228-12

NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 胁迫对碱茅和披碱草种子萌发、幼苗生长和生理指标的影响^{*}

郑译儒,赵俊超,龚束芳[†],王金刚

(东北农业大学园艺园林学院,哈尔滨 150030)
(2019 年 11 月 22 日收稿;2020 年 4 月 9 日收修改稿)

Zheng Y R, Zhao J C, Gong S F, et al. Effects of NaHCO₃ and Na₂CO₃ stress on seed germination, seedling growth, and physiological indexes of *Puccinellia chinampoensis* and *Elymus dahuricus* [J]. Journal of University of Chinese Academy of Sciences, 2021,38(2):228-239.

摘 要 盐碱化土壤限制植物的正常生长,明确禾本科草本植物对 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 胁迫的适应机制对于盐碱土壤的开发利用以及作物的种植具有重要意义。以碱茅和披碱草为材料,用 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 混合物胁迫处理,测定碱茅和披碱草的种子发芽率、幼苗干重、叶片细胞膜透性、光合气体交换参数、叶绿素荧光参数、叶片超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量,以及叶片和根系 Na⁺、K⁺ 离子含量。结果显示,胁迫处理降低碱茅和披碱草种子发芽率、幼苗干物质积累、叶片净光合速率和电子传递量子效率,并提高两种植物相对电导率和丙二醛含量。胁迫处理下碱茅叶片质膜的受损程度大于披碱草,叶片光合气体交换参数受影响更大,而披碱草更能维持 SOD 酶活性,相同混合物浓度处理时其叶片 MDA 含量低于碱茅。综上,NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 混合处理抑制碱茅和披碱草的正常生长,但披碱草的抗逆性强于碱茅。本研究通过生理特性分析筛选出潜在的更具耐盐碱材料,能够为盐碱地区土壤的生物修复以及禾本科作物的种植提供理论依据。

关键词 碱茅;披碱草;碱胁迫;生长指标;生理特性

中图分类号:Q945.79 文献标志码:A doi:10.7523/j.issn.2095-6134.2021.02.009

Effects of NaHCO₃ and Na₂CO₃ stress on seed germination, seedling growth, and physiological indexes of *Puccinellia chinampoensis* and *Elymus dahuricus*

ZHENG Yiru, ZHAO Junchao, GONG Shufang, WANG Jin'gang

(Department of Horticulture and Landscape Architecture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract Saline-alkali soil restricts the normal growth of plants. Understanding the adaptation mechanism of grasses to NaHCO₃ and Na₂CO₃ stress is important for the utilization of saline-alkali soil and the cultivation of crops. In this experiment, *Puccinellia chinampoensis* and *Elymus dahuricus* were treated with NaHCO₃ and Na₂CO₃ mixtures. The seed germination rate, seedling dry weight, a

^{*} 国家重点研发计划项目(2016YFC0500300)和黑龙江省自然科学基金(C2018021)资助

[†] 通信作者,E-mail:shufanggong@neau.edu.cn

series of leaf physiological parameters, including cell membrane permeability, photosynthetic gas exchange parameters, chlorophyll fluorescence parameters, superoxide dismutase activity and malondialdehyde (MDA) content, as well as leaf and root Na⁺, K⁺ ion contents were measured. The results showed that stress treatment reduced the seed germination rate, dry matter accumulation of seedlings, leaf net photosynthetic rate and electron transfer quantum efficiency, and increased the relative conductivity and MDA content of the two plant species. Under stress, the damage of the leaf cell plasma membrane of *P. chinampoensis* was greater than that of *E. dahuricus*, and the photosynthetic gas exchange parameters were more affected. *E. dahuricus* maintained higher SOD enzyme activity and lower MDA content than *P. chinampoensis* under stress treatments. In conclusion, the mixed treatment of NaHCO₃ and Na₂CO₃ inhibited the normal growth of *P. chinampoensis* and *E. dahuricus*, but *E. dahuricus* was more resistant than *P. chinampoensis*. This study provides theoretical basis for soil bioremediation and planting of grasses in saline-alkali areas.

Keywords *Puccinellia chinampoensis*; *Elymus dahuricus*; alkali stress; growth index; physiology parameters

目前,全球共有盐碱土面积 8.31×10^8 hm²,而中国大约有 9.2×10^6 hm²农田遭受盐碱毒害,其中松嫩平原是最主要的苏打盐碱分布区,主要盐分是NaHCO₃和Na₂CO₃^[1-4]。自然环境中的盐碱胁迫通常是中性盐胁迫和碱胁迫伴随发生的,前期的研究主要集中于以NaCl和Na₂SO₄为主的中性盐胁迫,而对碱性盐胁迫(NaHCO₃和Na₂CO₃)的研究还较少^[5-6]。一般盐碱胁迫下,植物细胞膜遭到破坏,可利用植物叶片的相对电导率和丙二醛(MDA)含量来反映细胞膜损害程度和植物对逆境条件抗性强弱^[7-8]。盐碱胁迫会对植物光合系统造成伤害,常表现在影响植物光合速率及叶绿素荧光参数^[9-10]。植物在长期适应盐碱胁迫过程中,进化出自身适应盐碱胁迫的生理机制。遭受逆境条件时,植物体内积累的活性氧严重影响植物的正常生长,而植物防御系统中的抗氧化酶,如超氧化物歧化酶(SOD),可以清除活性氧^[11]。由于盐碱胁迫下植物细胞内水势显著高于细胞外水势,从而造成植物细胞内水分失衡,而植物通过无机渗透调节,从外界环境中吸收大量的无机离子,如Na⁺和K⁺,来降低细胞水势而保证自身的生理活动正常进行^[12]。然而,一般的植物仅耐受较低盐碱胁迫能力,却无法在高浓度的盐碱环境下生存。因此筛选耐盐碱能力较强的植物材料并研究其抗逆机制是未来研究的重点。

碱茅和披碱草,均属于禾本科多年生草本,可用于放牧和饲用,同时也是潜在的优良草坪草资源^[13-14]。由于它们常年生活在碱斑土壤上,具有耐盐碱能力,因此可以作为潜在的耐盐碱胁迫研

究材料。前人研究发现中性盐(NaCl和Na₂SO₄)胁迫抑制碱茅和披碱草正常生长并影响其生理特征。张海南^[15]通过对5种碱茅材料的种子萌发的盐胁迫和幼苗期盐胁迫处理,对生长指标和生理指标的测定后进行方差分析和相关性分析,利用隶属函数法进行耐盐性综合评价后得出各项指标所占比重。任小青和冀宏^[16]用不同浓度NaCl、Na₂CO₃溶液对碱茅进行处理,发现随着盐溶液浓度的增加,发芽率逐渐降低,平均发芽时间逐渐延长;且相同溶液浓度下,Na₂CO₃胁迫比NaCl胁迫更为明显。通过设置不同盐浓度对披碱草幼苗进行胁迫,检测叶片细胞膜透性和游离脯氨酸含量等指标,研究者发现不同地区披碱草的耐盐性存在差异^[17-18]。用中性混合盐(NaCl和Na₂SO₄)和碱性混合盐(NaHCO₃和Na₂CO₃)对披碱草种子萌发进行胁迫处理,显示碱性胁迫明显高于中性胁迫^[19]。除具有高浓度盐胁迫,碱性盐与中性盐相比,其高pH也会对植物造成伤害。采用不同浓度NaCl和Na₂CO₃处理盐地碱蓬和小花碱茅,检测种子萌发率及萌发阶段幼苗的生长状况、幼苗的生理特性、活性氧清除系统、光合特性以及PSⅡ光化学特性等指标,发现盐地碱蓬和小花碱茅种子萌发率主要受到渗透胁迫的抑制,pH值对二者种子萌发的影响很小^[20]。目前已知混合碱胁迫影响披碱草生理指标和碱茅种子萌发,然而对于来自同一地区的碱茅和披碱草生长及生理指标如何响应混合碱胁迫还不得而知^[21]。

本研究采用不同浓度NaHCO₃和Na₂CO₃混合物对碱茅和披碱草进行处理,调查碱茅和披碱

草种子萌发及生理特征对碱性盐胁迫的响应,通过种子发芽率、幼苗干重、叶片细胞膜透性、光合气体交换参数、叶绿素荧光参数、叶片超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量,以及叶片和根系 Na^+ 、 K^+ 离子含量,明确碱茅和披碱草适应碱性盐胁迫的生理机制。本研究对二者的盐碱耐受性分析,旨在筛选抗性更强的植物材料并研究抗逆机制,可为盐碱土壤的开发利用以及作物的种植提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 种子萌发的测定

以采自中国黑龙江省安达盐碱土 ($\text{pH}>9$) 的碱茅 (*Puccinellia chinampoensis*) 和披碱草 (*Elymus dahuricus*) 为实验材料。配制 NaHCO_3 和 Na_2CO_3 的混合溶液(摩尔比为 2:1),设浓度分别为 0(对照)、25、50、75 和 100 mmol/L 的 5 个处理(pH 分别为 6.90、9.15、9.54、9.66、9.76)。每个处理 3 次重复,每个重复 10 个皿,共计 150 个皿。取干净的培养皿,内放 3 层滤纸,用 5 mL 不同浓度的混合溶液充分浸湿。选取饱满的碱茅和披碱草各 100 粒,先用 0.5% 次氯酸钠处理 10 min 进行表面消毒,然后用超纯水冲洗,最后将种子均匀铺在培养皿里。在光照培养箱在进行萌发率的实验(16 h 白天/8 h 夜间,11 540 lx,25 °C/21 °C)。每天抽取培养皿中剩余溶液,并注入与之浓度相对应的等量溶液。以培养根长达到种子长度的 1/2 为发芽标准,每天记录发芽的种子数,连续观察 10 d。发芽率=发芽种子数/供试种子数 $\times 100\%$ 。

1.2 幼苗干重的测定

选取籽粒饱满的碱茅和披碱草种子各 60 粒,分别播种于装有 1 kg 洗净细沙的花盆中,用 Hoagland 营养液浇灌,待长至 4~5 片真叶时进行间苗,每盆留 30 株。培养 30 d 后进行盐处理,每盆浇灌 100 mL 的 0、25、50、75 和 100 mmol/L 的碱性盐混合物(混合物配比同 1.1 节)的 Hoagland 营养液。处理 3 d 后,选取长势相同的 10 株幼苗,分别取地上部和地下部,洗净擦干后,进行 105 °C 杀青 30 min,80 °C 烘干至恒重,记录植株地上部和地下部干重。每个处理 3 次重复,每个重复 10 盆,共计 150 盆。

1.3 叶片细胞膜透性的测定

采用电导率法测定叶片细胞膜透性,取碱性盐混合物处理 3 d 后的碱茅和披碱草幼苗叶片各

0.2 g,清水洗净后再用蒸馏水冲洗 3 遍,剪碎后置于玻璃管中加 10 mL 蒸馏水进行充分震荡后静置,用电导率仪测定其电导率初始值,每隔 30 min 检测 1 次,待 2 h 后沸水煮 10 min,冷却后测定电导率终值。每个处理 3 次重复。细胞膜透性=电导率初值/煮沸后的测定值^[22]。

1.4 光合气体交换参数的测定

采用 LI-6400 便携式光合作用测量系统测定碱性盐混合物处理 3 d 后的叶片净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、胞间二氧化碳浓度(C_i)和蒸腾速率(T_r)。每个处理测定 3 次,每次测定 5 株。

1.5 叶绿素荧光参数的测定

碱性盐混合物处理 4 d 后,将叶片暗处理 30 min 后,采用便携式荧光仪 IMAGING-PAM 测定暗适应后的最小荧光(F_o)、最大荧光(F_m)和可变荧光(F_v)以及光适应后的最小荧光(F'_o)、最大荧光(F'_m)和可变荧光(F'_v)。PS II 的最大光化学效率(F_v/F_m)、实际光化学效率(Φ_{psII})、光化学淬灭(q_p)和非光化学淬灭(q_N)由仪器自动给出。每个处理测定 3 次,每次测定 5 株。

1.6 叶片超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量的测定

碱性盐混合物处理 3 d 后,取叶片 0.5 g,经液氮速冻后,采用 NBT(氮蓝四唑)光化还原法测定叶片超氧化物歧化酶活性^[22]。取叶片 0.5 g,采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定叶片丙二醛含量^[19]。每个处理 3 次重复,每个重复 5 株。

1.7 碱茅和披碱草幼苗 Na^+ 和 K^+ 离子含量的测定

碱性盐混合物处理 3 d 后,将两种草本的叶片或根系分别置于 105 °C 烘箱中进行 30 min 杀青,85 °C 烘干至恒重后取出进行研磨,过 60 目筛,分别取 0.1 g,用 $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$ (体积比 5:1)消煮至澄清透明,用去离子水定容至 20 mL 后,采用离子吸收分光光度计测定 Na^+ 和 K^+ 含量^[23],计算植物限 Na^+ 能力。限 Na^+ 能力=根系 Na^+ 含量/叶片 Na^+ 含量^[24]。

1.8 数据处理与分析

利用 Excel 2010 进行数据整理,利用 Prism 软件做图,利用 SPSS 17.0 结合 Tukey 分析方法对数据进行差异显著性分析($p<0.05$)。

2 实验结果

2.1 NaHCO₃和Na₂CO₃胁迫对碱茅和披碱草种子萌发率和干重的影响

种子的发芽率是检验种子在萌发过程中受到逆境影响的一个重要指标。由图1可知,不同浓度的NaHCO₃和Na₂CO₃混合物处理均抑制碱茅和披碱草种子的萌发。在第10天时,与0 mmol/L处理相比,随着混合物浓度的升高,碱茅种子的发芽率分别为56.60%、38.20%、14.64%和13.35%,见图1(a),而披碱草的发芽

率分别为70.12%、53.44%、24.57%和19.10%,见图1(b)。碱茅和披碱草地上部和地下部干重也均表现出随混合物浓度增加而逐渐下降的趋势,见图2。与对照相比,各浓度处理的碱茅和披碱草均显著下降,见图2。进一步分析发现,相同混合物浓度处理时,碱茅与披碱草的地上部和地下部干重差异均达到显著水平,见表1。结果说明,NaHCO₃和Na₂CO₃混合物处理随时间的增加均抑制碱茅和披碱草种子的萌发,且随混合物浓度的增加碱茅和披碱草幼苗的生长受抑制严重。

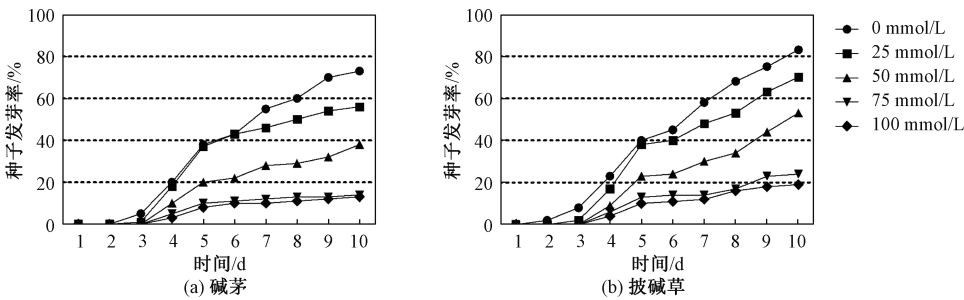
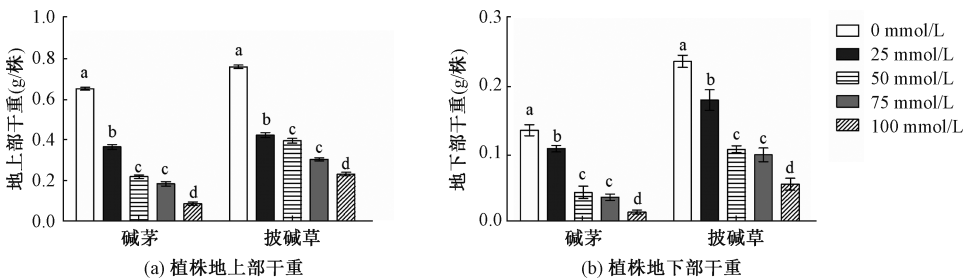


图1 NaHCO₃和Na₂CO₃混合物对碱茅(a)和披碱草(b)种子发芽率的影响
Fig.1 Effects of NaHCO₃ and Na₂CO₃ mixture on germination rate of *P. Chinampoensis* (a) and *E. dahuricus* (b)



不同小写字母代表相同植物在不同碱性盐浓度下差异显著($p<0.05$), p 值为显著水平。数值由3个独立实验的平均值±标准误差表示。
采用双因素方法进行多重比较,不同小写字母表明差异显著($p<0.05$)。

图2 NaHCO₃和Na₂CO₃混合物对碱茅和披碱草干重的影响

Fig.2 Effects of NaHCO₃ and Na₂CO₃ mixture on dry weight of *P. Chinampoensis* and *E. dahuricus*

表1 不同浓度的NaHCO ₃ 和Na ₂ CO ₃ 混合物处理下碱茅和披碱草干重的方差分析						
Table 1 Variance analysis on plant dry weight under different concentrations of NaHCO ₃ and Na ₂ CO ₃ mixture						
部位	变异来源	平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	显著水平
地上部	植物种类	0.11	1	0.11	1 151.02	3.75E-19
	处理浓度	1.04	4	0.26	2 735.38	4.49E-27
	误差	1.91E-03	20	9.54E-05		
	总计	5.10	30			
地下部	植物种类	0.03	1	0.03	478.68	1.93E-15
	处理浓度	0.09	4	0.02	313.71	9.79E-18
	误差	1.43E-03	20	7.16E-05		
	总计	0.43	30			

2.2 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 胁迫对碱茅和披碱草叶片相对电导率的影响

由图 3(具体说明同图 2 图注,其后各图亦然)可知,在同一时间下,碱茅和披碱草叶片相对电导率随 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 混合物浓度的增加而增加,说明碱茅和披碱草相对电导率变化与混合物浓度有关。在 4 个检测时间点,25 和 50 mmol/L 浓度处理的披碱草叶片相对电导率与未处理(0 mmol/L)相比均没有差异,而 75 和 100 mmol/L 处理的披碱草叶片相对电导率显

著高于未处理组。除 60 min 外,其他时间段中 50、75 和 100 mmol/L 处理的碱茅叶片相对电导率均显著高于未处理组。同时,在相同混合物浓度处理下,碱茅与披碱草不同时间段的相对电导率差异均分别达到显著水平,见表 2;另外,高浓度混合物处理(75 和 100 mmol/L)的碱茅叶片在 90 和 120 min 的相对电导率都高于披碱草。结果说明,NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 混合物处理损害碱茅和披碱草叶片质膜,且碱茅叶片质膜的受损程度大于披碱草。

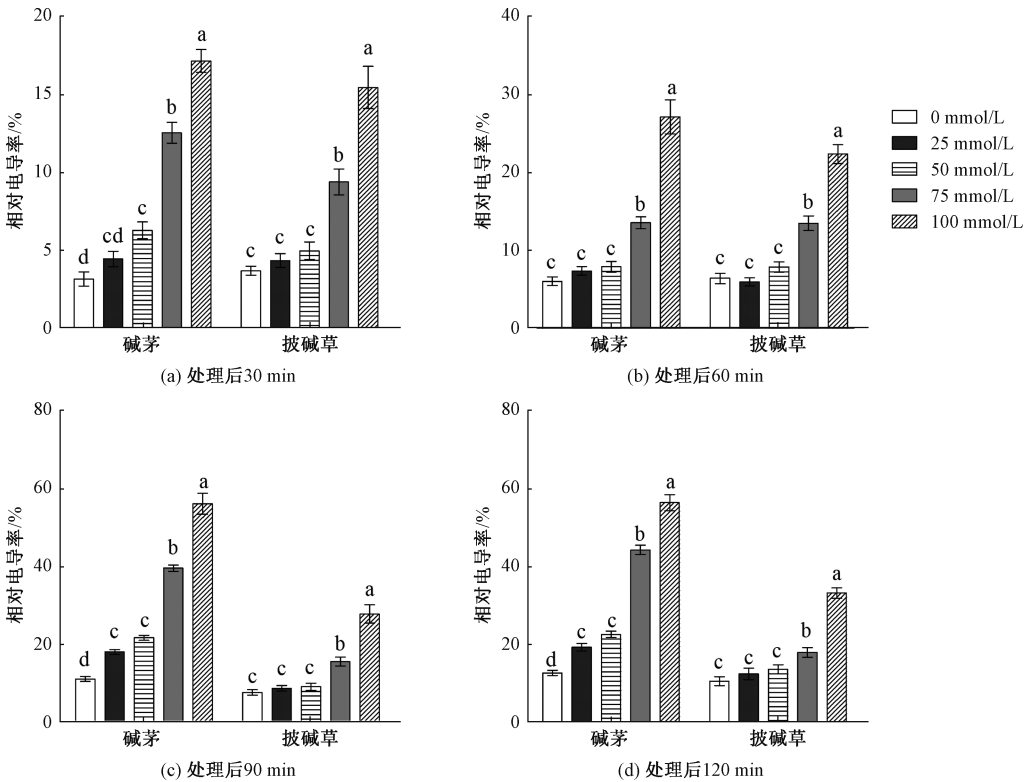


图 3 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 混合物处理后碱茅和披碱草叶片相对电导率的变化

Fig. 3 Changes in leaf relative conductivity (%) of *P. chinampoensis* and *E. dahuricus* under NaHCO₃ and Na₂CO₃ mixture treatments

2.3 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 胁迫对碱茅和披碱草叶片 SOD 活性和 MDA 含量的影响

如图 4(a) 所示,随 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 混合物浓度的增加,碱茅和披碱草叶片 SOD 活性均表现出先升高后下降趋势。在 25 mmol/L 浓度时,碱茅和披碱草叶片的 SOD 活性显著高于未处理组。在 50 mmol/L 浓度下,碱茅和对照处理有显著差异,而披碱草未发生显著下降($p<0.05$)。在 75 和 100 mmol/L 浓度处理时,与对照处理相比,碱茅叶片 SOD 活性显著下降($p<0.05$),而披碱草叶片 SOD 活性仅在 100 mmol/L 处理时才显著

低于 0 mmol/L,说明在 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 混合物胁迫下,披碱草更能维持 SOD 活性。如图 4(b) 所示,随处理浓度的增加,碱茅和披碱草叶片 MDA 含量均呈现出升高趋势。同时,在相同混合物浓度处理下,碱茅与披碱草叶片内的 SOD 活性和 MDA 含量差异均达到显著水平,见表 3;另外,与对照组相比,100 mmol/L 处理时的碱茅和披碱草叶片 MDA 含量与各自的对照组相比分别增加 115.68% 和 95.14%,说明碱茅叶片积累的 MDA 含量更多。结果表明通过 SOD 活性和 MDA 含量分析发现披碱草在 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 混合物处

表 2 不同浓度的 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 混合物处理下碱茅和披碱草相对电导率的方差分析

Table 2 Variance analysis on leaf relative conductivity under different concentrations of NaHCO₃ and Na₂CO₃ mixture treatment

时间/min	变异来源	平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	显著水平
30	植物种类	9.85	1	9.85	20.39	2.11E-04
	处理浓度	702.00	4	175.50	363.36	2.31E-18
	误差	9.66	20	0.48		
	总计	2 712.46	30			
60	植物种类	10.44	1	10.44	10.68	3.84E-03
	处理浓度	1 443.34	4	360.83	369.15	1.97E-18
	误差	19.55	20	0.98		
	总计	5 671.51	30			
90	植物种类	13 661.87	1	13 661.87	7 729.97	2.31E-27
	处理浓度	1 801.88	1	1 801.88	1 019.51	1.24E-18
	误差	35.35	20	1.77		
	总计	20 344.53	30			
120	植物种类	1 358.79	1	1 358.79	853.11	7.08E-18
	处理浓度	4 406.07	4	1 101.52	691.59	3.97E-21
	误差	31.85	20	1.59		
	总计	23 905.32	30			

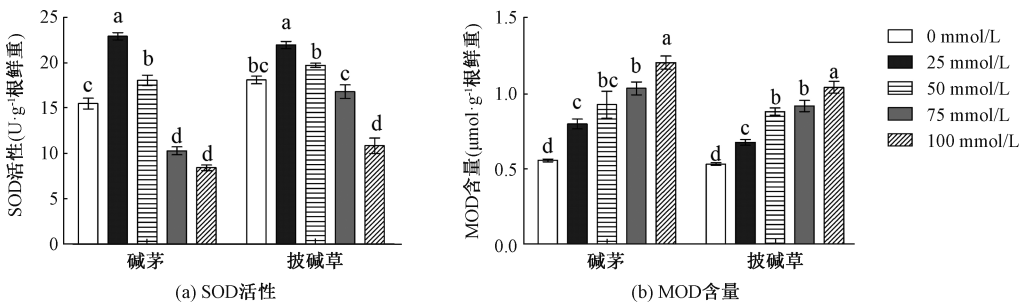


图 4 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 混合物胁迫下碱茅和披碱草叶片 SOD 活性和丙二醛含量的变化

Fig. 4 Changes in leaf SOD activity (a) and MDA content (b) of *P. Chinampoensis* and *E. dahuricus* under NaHCO₃ and Na₂CO₃ mixture

表 3 不同浓度的 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 混合物处理下碱茅和披碱草的 SOD 活性和 MDA 含量方差分析

Table 3 Variance analysis on leaf SOD activity and MDA content of selected materials at NaHCO₃ and Na₂CO₃ mixture

生理指标	变异来源	平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	显著水平
SOD 活性	植物种类	44.87	1	44.87	160.52	5.18E-11
	处理浓度	576.98	4	144.24	516.01	7.23E-20
	误差	5.59	20	0.28		
	总计	8605.14	30			
MDA 含量	植物种类	0.10	1	0.10	58.06	2.45E-07
	处理浓度	1.40	4	0.35	204.57	6.43E-16
	误差	0.03	20	1.71E-03		
	总计	23.28	30			

理下的抗逆性好于碱茅。

2.4 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 胁迫对碱茅和披碱草幼苗叶片光合气体交换参数和叶绿素荧光参数的影响

由图 5(a) 可知,碱茅叶片 P_n 随混合物浓度

的升高而降低,而披碱草叶片 P_n 仅在 75 和 100 mmol/L 时显著低于对照。高浓度的混合物处理(75 和 100 mmol/L)碱茅和披碱草叶片 G_s 和 T_r 显著降低,而碱茅叶片 C_i 提高;另外,披碱草的 C_i 只在 100 mmol/L 处理时才显著高于未处理组,

见图 5。进一步分析表明,在相同混合物浓度处理下,碱茅与披碱草叶片的 4 个光合气体交换参数差异分别达到显著水平,见表 4。结果说明碱茅叶片光合气体交换参数与披碱草相比更易受 NaHCO_3 和 Na_2CO_3 混合物处理的影响。

不同浓度混合物处理对碱茅和披碱草的 F_v/F_m 没有影响,见图 6(a);碱茅与披碱草叶片的 F_v/F_m 在相同浓度下没有显著差异,见表 5。

100 mmol/L 混合物处理的碱茅和披碱草的 Φ_{PSII} 均显著低于未处理组,见图 6(b)。随着 NaHCO_3 和 Na_2CO_3 混合物浓度的增加,披碱草的 q_P 有下降趋势,碱茅的 q_N 呈先下降后升高趋势,而披碱草的 q_N 呈上升趋势,见图 6。同时,在相同混合物浓度处理下,碱茅与披碱草叶片的 Φ_{PSII} 、 q_P 和 q_N 3 个叶绿素荧光参数差异都分别达到显著水平,见表 5。

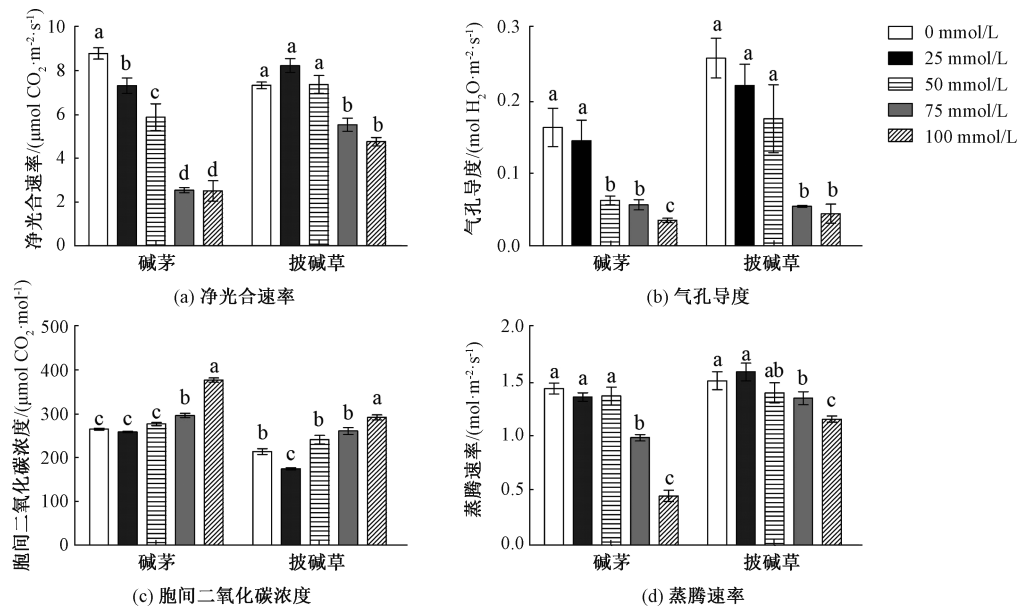


图 5 NaHCO_3 和 Na_2CO_3 混合物胁迫下碱茅和披碱草叶片光合气体交换参数的变化

Fig. 5 Changes in leaf photosynthetic gas exchange of *P. Chinampoensis* and *E. dahuricus* under NaHCO_3 and Na_2CO_3 mixture

表 4 不同浓度的 NaHCO_3 和 Na_2CO_3 混合物处理下碱茅和披碱草叶片光合气体交换参数的方差分析

Table 4 Variance analysis on leaf photosynthetic gas exchange under different concentrations of NaHCO_3 and Na_2CO_3 mixture treatment

生理指标	变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著水平
净光合速率 P_n	植物种类	11.42	1	11.42	94.29	5.17E-09
	处理浓度	103.03	4	25.76	212.67	4.41E-16
	误差	2.42	20	0.12		
	总计	1 221.01	30			
气孔导度 G_s	植物种类	0.02	1	0.02	45.67	1.42E-06
	处理浓度	0.13	4	0.03	61.31	6.08E-11
	误差	0.01	20	5.41E-04		
	总计	0.62	30			
胞间 CO_2 浓度 C_i	植物种类	25386.84	1	25 386.84	809.04	1.19E-17
	处理浓度	47 928.19	4	11 982.05	381.85	1.41E-18
	误差	627.58	20	31.38		
	总计	2 187 435.67	30			
蒸腾速率 T_r	植物种类	0.58	1	0.58	147.49	1.10E-10
	处理浓度	1.91	4	0.48	121.61	9.78E-14
	误差	0.08	20	3.93E-03		
	总计	50.11	30			

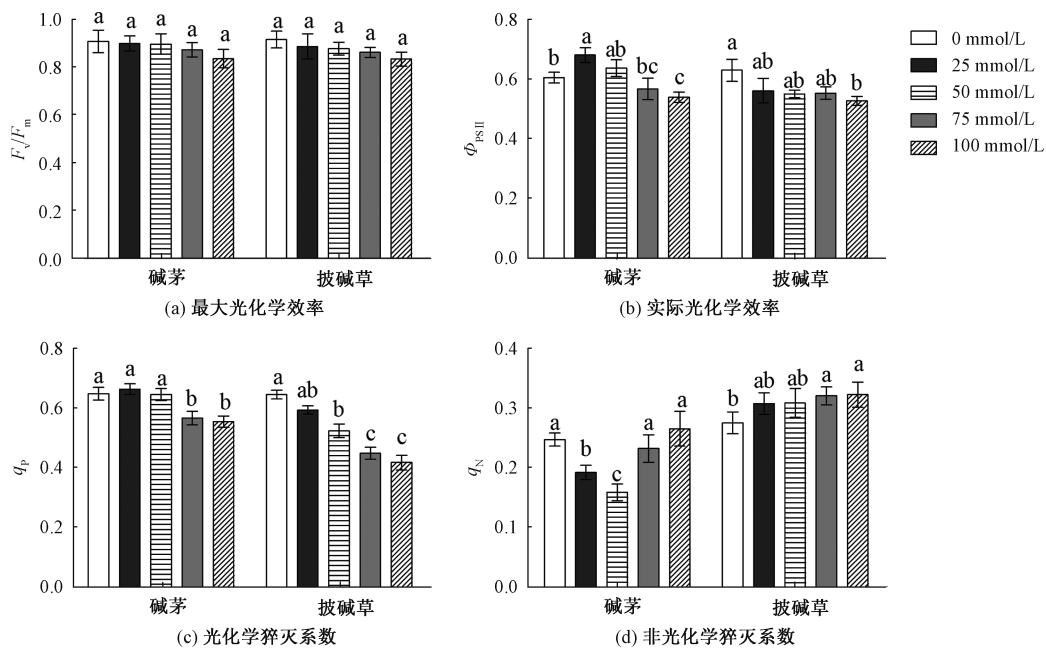


图 6 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 混合物胁迫下碱茅和披碱草叶片叶绿素荧光参数的变化

Fig. 6 Changes in leaf chlorophyll fluorescence parameters of *P. Chinampoensis* and *E. dahuricus* under NaHCO₃ and Na₂CO₃ mixture

表 5 不同浓度的 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 混合物处理下碱茅和披碱草叶绿素荧光参数的方差分析

Table 5 Variance analysis of leaf chlorophyll fluorescence parameters under different concentrations of NaHCO₃ and Na₂CO₃ mixture treatment

生理指标	变异来源	平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	显著水平
最大光化学效率 F_v/F_m	植物种类	3.89E-04	1	3.89E-04	0.29	0.6
	处理浓度	0.02	4	0.01	3.79	0.02
	误差	0.03	20	1.35E-03		
	总计	23.12	30			
实际光化学效率 Φ_{PSII}	植物种类	0.01	1	0.01	17.85	4.16E-04
	处理浓度	0.03	4	0.01	11.82	4.32E-05
	误差	0.01	20	7.20E-04		
	总计	10.3	30			
光化学淬灭 q_p	植物种类	0.06	1	0.06	140.86	1.65E-10
	处理浓度	0.09	4	0.02	55.93	1.41E-10
	误差	0.01	20	4.03E-04		
	总计	9.86	30			
非光化学淬灭 q_N	植物种类	0.06	1	0.06	153.97	7.51E-11
	处理浓度	0.01	4	3.23E-03	8.69	3.11E-04
	误差	0.01	20	3.72E-04		
	总计	2.15	30			

2.5 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 胁迫对碱茅和披碱草幼苗 Na⁺和 K⁺离子含量的影响

与未处理相比,4 种浓度 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 混合物处理显著提高碱茅和披碱草叶片 Na⁺ 含量,降低叶片 K⁺ 含量和 K⁺/Na⁺,见图 7;方差分析表明,在相同混合物浓度处理下,碱茅与披碱草叶片的 Na⁺ 含量差异达到显著水平,见表 6。从图 7 可以看出,高浓度混合物(75 和 100 mmol/L)处理显著提高碱茅根

系 Na⁺ 含量,降低碱茅和披碱草根 K⁺ 含量和 K⁺/Na⁺;进一步分析发现,在相同混合物浓度处理下,碱茅与披碱草的根中 K⁺ 含量和 K⁺/Na⁺ 差异都分别达到显著水平,见表 6。同时,随着混合物浓度的升高,碱茅的限 Na⁺ 能力升高,而 25 mmol/L 的混合物处理显著降低披碱草的限 Na⁺ 能力,见图 7(g)。说明 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 混合物处理均影响碱茅和披碱草叶片和根系的钾钠离子平衡,激活碱茅的限 Na⁺ 能力。

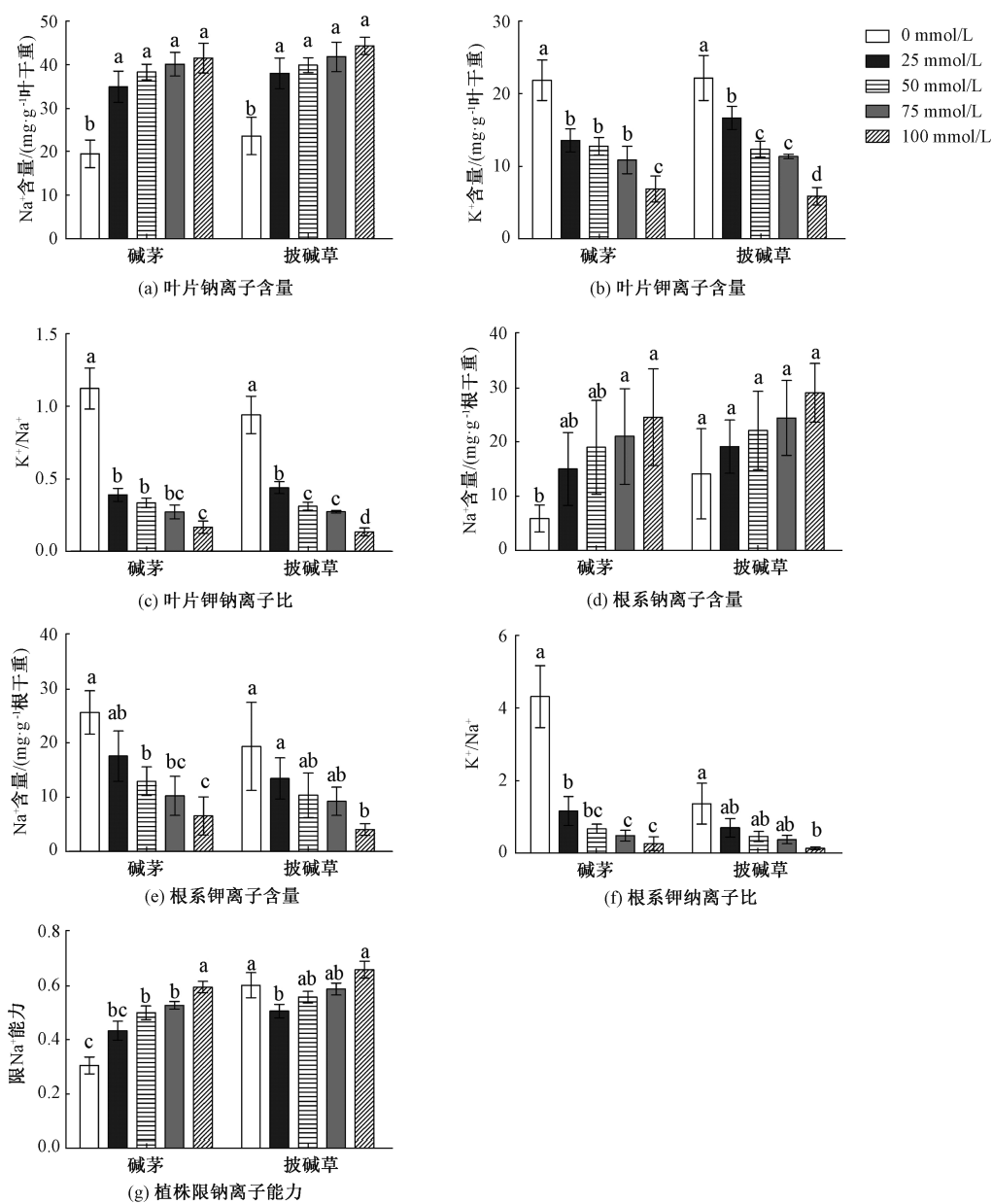


图 7 NaHCO_3 和 Na_2CO_3 混合物胁迫下碱茅和披碱草 Na^+ 和 K^+ 离子含量的变化

Fig. 7 Changes in contents of Na^+ and K^+ of *P. Chinampoensis* and *E. dahuricus* under NaHCO_3 and Na_2CO_3 mixture

3 讨论

盐碱胁迫是影响植物生长和发育的一个重要环境因子,虽然盐碱胁迫会抑制植物的生长发育,但是其抑制作用的大小取决于植物对盐碱的耐受程度^[19]。一般而言,渗透效应是盐碱抑制植物种子萌发的主要原因,随着盐浓度的升高,种子萌发受到的抑制程度加重^[25-26]。幼苗期是植物生长的关键时期,也是对盐碱胁迫较为敏感的时期,幼苗期的营养物质积累直接关系到植物后期对胁迫环境的适应性^[27]。种子发芽率随盐浓度升高而降低外,本研究还发现,在不同浓度 NaHCO_3 和 Na_2CO_3 混合物胁迫下均能调查到碱茅和披碱草

种子萌发,说明碱茅和披碱草均具有潜在的耐盐碱能力^[19]。前人研究发现 NaCl 、 NaHCO_3 、 Na_2SO_4 和 Na_2CO_3 能抑制植物干物质的积累^[28],在本研究中,不同浓度的 NaHCO_3 和 Na_2CO_3 混合物处理均造成碱茅和披碱草地上部和地下部干重的降低,说明碱茅和披碱草光合同化物的积累受到碱性盐的抑制。

植物生物膜结构的稳定性与抗逆性密切相关。丙二醛(MDA)是膜脂过氧化的产物,膜脂过氧化造成细胞水解加速,膜的透性增加,从而导致电导率增加^[29]。前人发现,随着盐碱浓度的提高,大麦和小麦幼苗叶片的电解质外渗率和 MDA

表 6 不同浓度 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 混合物处理下碱茅和披碱草 Na⁺和 K⁺离子的方差分析

Table 6 Variance analysis of Na⁺ and K⁺ contents under different concentrations of NaHCO₃ and Na₂CO₃ mixture treatment

生理指标		变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著水平
Na ⁺ 含量		植物种类	53. 07	1	53. 07	5. 62	0. 03
		处理浓度	1 743. 28	4	435. 82	46. 13	8. 02E-10
		误差	188. 96	20	9. 45		
		总计	41 283. 29	30			
叶片 K ⁺ 含量		植物种类	1. 87	1	1. 87	0. 56	0. 46
		处理浓度	795. 38	4	198. 84	59. 18	8. 42E-11
		误差	67. 20	20	3. 36		
		总计	6 322. 47	30			
K ⁺ /Na ⁺		植物种类	0. 01	1	0. 01	0. 70	0. 41
		处理浓度	3. 06	4	0. 76	49. 21	4. 49E-10
		误差	0. 31	20	0. 02		
		总计	9. 37	30			
Na ⁺ 含量		植物种类	162. 87	1	162. 87	3. 24	0. 09
		处理浓度	960. 70	4	240. 18	4. 77	0. 01
		误差	1 006. 52	20	50. 33		
		总计	1 3457. 87	30			
根系 K ⁺ 含量		植物种类	80. 69	1	80. 69	4. 64	0. 04
		处理浓度	1 003. 22	4	250. 80	14. 42	1. 08E-05
		误差	347. 92	20	17. 40		
		总计	6 431. 86	30			
K ⁺ /Na ⁺		植物种类	4. 75	1	4. 75	8. 23	0. 01
		处理浓度	29. 18	4	7. 30	12. 65	2. 71E-05
		误差	11. 53	20	0. 58		
		总计	86. 92	30			
限 Na ⁺ 能力		植物种类	0. 09	1	0. 09	2. 81	0. 11
		处理浓度	0. 12	4	0. 03	0. 90	0. 48
		误差	0. 65	20	0. 03		
		总计	9. 08	30			

含量增加,盐分浓度越大,细胞膜透性越大,最终导致膜系统破碎^[30-31]。本实验中,碱茅和披碱草叶片的相对电导率和 MDA 含量随 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 混合物浓度的增加而升高,说明 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 混合物破坏碱茅和披碱草叶片质膜的稳定性,损害膜结构,造成细胞内电解质渗漏,加重膜脂过氧化。其中随着处理浓度的增加,碱茅的叶片相对电导率和 MDA 上升趋势均大于披碱草,说明披碱草抗性好于碱茅。

净光合速率(P_n)反映单位叶面积的碳同化能力,前人研究表明,净光合速率的降低与植物受碱性盐胁迫的伤害程度有关^[32]。叶片气孔部分关闭导致的气孔限制和叶肉细胞光合活性下降导致的非气孔限制均会造成 P_n 降低,且盐碱胁迫程度较低时 P_n 下降多为气孔因素影响,而当盐碱胁迫程度较高时 P_n 下降受非气孔因素以及气孔因素和非气孔因素协同影响^[33]。本研究发现,高浓度的碱性盐(75 和 100 mmol/L)对碱茅和披碱草

叶片的 P_n 抑制作用明显,同时伴随着气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)的降低和胞间二氧化碳浓度(C_i)的升高,说明高浓度碱性盐胁迫造成的净光合速率下降是由气孔因素和非气孔因素共同造成的,这与前人研究结果一致^[34]。此外,过量浓度处理破坏了碱茅和披碱草叶片碳同化能力。

PSII 原初反应的最大量子效率 F_v/F_m 和电子传递量子效率(Φ_{psII})是调查植物对逆境胁迫响应的重要参数和判断植物是否受到光抑制的重要指标^[35]。本研究中,虽然披碱草和碱茅的 F_v/F_m 没有受混合物影响,但是 Φ_{psII} 和 q_p 在 100 mmol/L 混合物处理时均显著降低,说明高浓度的碱性盐胁迫抑制光系统Ⅱ反应中心的潜在活性。非光化学淬灭系数(q_N)可用来衡量植物过剩激发能耗散^[36]。虽然碱茅的 q_N 随着混合物浓度的增加先下降后上升,但是没有高于对照处理,而披碱草的 q_N 在高浓度时显著高于对照处理,表明披碱草更能提高热耗散消耗来适应碱性盐胁迫。

迫。前人研究发现,高浓度碱性盐胁迫通过抑制光系统 II 反应的中心活性最终导致植物净光合速率的降低^[27]。本研究,100 mmol/L 混合物处理显著降低了碱茅和披碱草 Φ_{PSII} ,这可能是两种植物 P_n 下降的原因。

超氧化物歧化酶(SOD)是最主要的一种抗氧化酶,是植物体内清除活性氧的第一道防线,当植物处于盐碱胁迫时,SOD 对维持活性氧的平衡起到重要作用,其活性大小与植物抗逆性密切相关^[37]。有研究发现,SOD 活性随着盐碱胁迫度的增加而增加^[38-39]。本研究中,低浓度混合(25 和 50 mmol/L)处理时,碱茅和披碱草的 SOD 活性升高趋势,说明碱茅和披碱草的抗氧化酶发挥了清除活性氧的功能。而当 100 mmol/L 混合物处理时,碱茅和披碱草的 SOD 活性显著降低,说明混合物的胁迫程度已经超出两种植物的抗氧化能力。披碱草在 75 mmol/L 混合物处理没有抑制披碱草 SOD 活性,碱茅在 50 mmol/L 处理下 SOD 受抑制。披碱草的 MDA 含量在 50 mmol/L 浓度下含量与对照相比无明显差异,而碱茅在这个浓度下显著高于对照,这里说明披碱草抗性强于碱茅。

植物 Na^+ 和 K^+ 代谢是其适应盐渍环境最为重要的生理代谢活动,当环境中 Na^+ 含量增高时,会拮抗植物对 K^+ 的吸收,从而限制植物生长^[40-41]。本研究发现,碱茅和披碱草的叶片和根系 Na^+ 离子含量随着碱性盐浓度的升高而升高,而 K^+ 离子含量和 K^+/Na^+ 则呈现出相反趋势。植物限制根向叶片转运 Na^+ 的能力是其耐盐碱胁迫的机制之一^[42]。本研究中,碱茅限 Na^+ 能力随着 $NaHCO_3$ 和 Na_2CO_3 混合物浓度的升高而升高, $NaHCO_3$ 和 Na_2CO_3 混合物对披碱草限 Na^+ 能力影响不大,说明 $NaHCO_3$ 和 Na_2CO_3 胁迫激活了碱茅的限 Na^+ 能力,碱茅好于披碱草的限 Na^+ 能力。

综上, $NaHCO_3$ 和 Na_2CO_3 胁迫抑制碱茅和披碱草种子萌发和幼苗干物质积累,提高叶片相对电导率和丙二醛含量,降低叶片净光合速率和电子传递量子效率,对两种植物的正常生长造成伤害。同时,不同浓度混合物处理下,披碱草与碱茅相比更能维持 SOD 酶活性,且 MDA 含量以及质膜损伤程度均低于碱茅。因此实验结果揭示披碱草在碱性盐混合物胁迫下的抗逆性好于碱茅。本实验丰富了对碱茅和披碱草响应 $NaHCO_3$ 和 Na_2CO_3 胁迫机制的理解,对于今后在中国东北盐

碱土地区的生物修复及推广种植披碱草具有理论指导意义。

参考文献

[1] Li Y Y, Huang L H, Zhang H, et al. Assessment of ammonia volatilization losses and nitrogen utilization during the rice growing season in alkaline salt-affected soils [J]. Sustainability, 2017, 9(1):132. doi:10.3390/su9010132.

[2] 杨真, 王宝山. 中国盐渍土资源现状及改良利用对策 [J]. 山东农业科学, 2015(4):125-130.

[3] 尹喜霖, 王勇, 柏钰春. 浅论黑龙江省的土地盐碱化 [J]. 水利科技与经济, 2004, 10(6):361-363.

[4] Li W, Seki K, Miyazaki T, et al. The causes of soil alkalization in the Songnen Plain of Northeast China [J]. Paddy and Water Environment, 2009, 7(3):259-270.

[5] Cartmill A, Valdez-Aguilar L, Bryan D. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance tolerance of vinca to high alkalinity in irrigation water [J]. Scientia Horticulturae, 2008, 115(3):275-284.

[6] 张丽. 平欧杂种榛抗盐碱生理机制研究及其耐盐性评价 [D]. 北京:中国林业科学研究院, 2015.

[7] 何森, 王欢, 徐鹏飞, 等. 获幼苗对复合盐碱胁迫的生理响应 [J]. 西北植物学报, 2016, 36(3):506-514.

[8] 王欢, 张春宵, 李淑芬. 玉米杂交种四单 19 及其双亲耐盐碱性差异分析 [J]. 玉米科学, 2019, 27(1):29-32.

[9] 王俭珍, 刘倩, 高娅妮, 等. 植物对盐碱胁迫的响应机制研究进展 [J]. 生态学报, 2017, 37(16):5565-5577.

[10] 罗俊, 张木清, 吕建林, 等. 水分胁迫对不同甘蔗品种叶绿素 a 荧光动力学的影响 [J]. 福建农林大学学报, 2000, 29(1):18-22.

[11] Ashraf M, Foolad M R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance [J]. Environmental and Experimental Botany, 2007, 59(2):206-216.

[12] 李长有. 盐碱地四种主要致害盐分对虎尾草胁迫作用的混合效应与机制 [D]. 长春:东北师范大学, 2009.

[13] 徐安凯. 耐盐优良牧草:碱茅 [M]. 北京:台海出版社, 2002:4-5.

[14] 卢宝荣. 披碱草属 (*Elymus* L.) 两个物种之订正 [J]. 植物分类学报, 2002, 40(6):539-545.

[15] 张海南. 不同种类碱茅牧草的耐盐性研究 [D]. 西宁:青海省畜牧兽医科学院, 2014.

[16] 任小青, 冀宏. 盐胁迫对碱茅草种子萌发的影响 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(19):11740-11770.

[17] 刘雪娜. 盐胁迫下披碱草苗期生理特征初步研究 [J]. 内蒙古林业调查设计, 2017, 40(1):99-102.

[18] 王传旗, 谢国平, 白玛曲珍, 等. NaCl 对西藏不同地域野生披碱草种子萌发的影响研究 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2017(7):142-146.

[19] 胡宗英. 不同盐碱胁迫对披碱草和紫花苜蓿种子萌发的影响 [D]. 长春:吉林农业大学, 2014.

[20] 陈冠宜. 盐地碱蓬和小花碱茅对 NaCl 和 Na_2CO_3 抗性的

比较研究[D]. 济南:山东师范大学, 2011.

[21] 赵满兴, 崔亚荣, 王文强, 等. 混合碱胁迫对碱茅和紫花苜蓿种子萌发的影响[J]. 中国农学通报, 2018, 34(6): 24-29.

[22] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2000:164-169.

[23] 周琦, 祝遵凌. NaCl胁迫对2种鹅耳枥幼苗生长及离子吸收、分配与运输的影响[J]. 北京林业大学学报, 2015, 37(12):7-16.

[24] 王晓冬, 王成, 马智宏, 等. 短期NaCl胁迫对不同小麦品种幼苗K⁺吸收和Na⁺、K⁺积累的影响[J]. 生态学报, 2011, 31(10): 2822-2830.

[25] 邵红雨, 孔广超, 岳超, 等. 小黑麦耐盐生理特性的研究[J]. 新疆农业科学, 2007, 44(S3):77-81.

[26] 郑九华, 冯永军, 于开芹, 等. 微咸水处理对玉米、棉花发芽和出苗的影响[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2002, 32(2):158-161.

[27] 邹春雷. 甜菜适应碱性盐胁迫的生理机制及其转录组分析[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2019.

[28] Guo R, Shi L X, Yan C R, et al. Ionic and metabolic responses to neutral salt or alkaline salt stresses in maize (*Zea mays* L.) seedlings[J]. BMC Plant Biology, 2017, 17(1): 41-46.

[29] Chen J J, Yu B P. Alterations in mitochondrial membrane fluidity by lipid peroxidation products [J]. Free Radical Biology and Medicine, 1994, 17(5):411-418.

[30] 龚明, 丁念诚, 贺子义, 等. 盐胁迫下大麦和小麦叶片脂质过氧化伤害与超微结构变化的关系[J]. 植物学报, 1989, 31(11):841-846.

[31] 罗青红, 寇云玲, 史彦江, 等. 6种杂交榛对新疆盐碱土的生理适应性研究[J]. 西北植物学报, 2013, 33(9): 1867-1873.

[32] 葛兆健, 姚瑶, 赵海燕, 等. NaCl胁迫对醋栗番茄、樱桃番茄和番茄幼苗生长、叶片气体交换和离子平衡的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2016, 25(3):45-51.

[33] Farquhar G D, Sharkey T D. Stomatal conductance and photosynthesis[J]. Annual Review of Plant Biology, 1982, 33(1): 317-345.

[34] 薛延丰, 刘兆普. 不同浓度NaCl和Na₂CO₃处理对菊芋幼苗光合及叶绿素荧光的影响[J]. 植物生态学报, 2008, 32(1):161-167.

[35] 吴晓丽, 汤永禄, 李朝苏, 等. 不同生育时期渍水对冬小麦旗叶绿素荧光及籽粒灌浆特性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2015, 23(3):309-318.

[36] Aroca R, Irigoyen J J, Sánchez-díaz M. Drought enhances maize chilling tolerance II. Photosynthetic traits and protective mechanisms against oxidative stress [J]. Physiologia Plantarum, 2003, 117(4):540-549.

[37] 李琳琳, 刘佳, 苏贝贝, 等. 茉莉酸甲酯对颠茄毛状根的生理指标及托品烷类生物碱积累的影响[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2017, 39(5): 60-75.

[38] 陈展宇, 常雨婷, 邓川, 等. 盐碱生境对甜高粱幼苗抗氧化酶活性和生物量的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2017, 39(1):15-19.

[39] 孙璐, 黄瑞冬. 高粱幼苗保护酶系统对盐胁迫的初期响应[J]. 沈阳农业大学学报, 2014, 45(2):134-137.

[40] 王宁, 杨杰, 黄群, 等. 盐胁迫下棉花K⁺和Na⁺离子转运的耐盐性生理机制[J]. 棉花学报, 2015, 27(3):208-215.

[41] 尚培培, 李丰先, 周宇飞, 等. 缓和碱(NaHCO₃和Na₂CO₃)胁迫对高粱幼苗渗透调节和离子平衡的影响[J]. 生态学杂志, 2015, 34(7):1924-1929.

[42] Parida A K, Das A B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2005, 60(3):324-349.