

宗建伟,李晓倩,张创,等.盐胁迫对百合生理特性及叶片解剖结构的影响[J].华中农业大学学报,2024,43(1):166-175.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2024.01.019

盐胁迫对百合生理特性及叶片解剖结构的影响

宗建伟,李晓倩,张创,赵小杰,杨雨华

河南牧业经济学院艺术学院,郑州 450046

摘要 为探明百合响应盐胁迫的生理特性和综合评价百合耐盐性,以OT杂交系百合‘红色宫殿’(*Lilium ‘Red palace’*)种球为试材,设置不同浓度(0、50、100、150、200 mmol/L)NaCl处理,分析盐胁迫对其光合色素、光合参数、渗透调节物质及叶片解剖结构的影响,并对其指标进行相关性和主成分分析。结果显示,随着胁迫时间的延长,百合叶片叶绿素a(Chl a)和叶绿素b(Chl b)含量降幅明显,游离脯氨酸(Pro)、可溶性蛋白含量持续升高,而丙二醛含量在50~150 mmol/L NaCl处理条件下呈先升后降的趋势,在200 mmol/L NaCl处理条件下则呈现升高趋势;胁迫30 d时,随NaCl浓度增加,叶片净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)被抑制,气孔导度(G_s)减小,胞间CO₂浓度(C_i)呈先降低后升高趋势,而水分利用效率(WUE)呈先升高后降低趋势;盐浓度的持续升高,百合叶片与花蕾生长受抑制,叶片解剖结构指标除海绵组织厚度增大外,叶片厚度(LT)、上表皮厚度(UE)、下表皮厚度(LE)、栅栏组织厚度(PT)均呈减小趋势,组织结构疏松度(SR)增大,栅海比(P/S)则减小;主成分分析结果显示 P_n 与 T_r 、Chl b、LT呈显著正相关,与Pro呈显著负相关,说明100 mmol/L盐浓度为百合的耐盐阈值, P_n 、 T_r 、 G_s 、Chl b、LT和Pro可作为评价百合耐盐能力的有效指标。以上结果表明,低盐胁迫下,百合主要通过降低 T_r 、 G_s 、 C_i 及累积渗透调节物质以缓解盐害;高盐胁迫下,百合生长受阻,叶片解剖结构抗逆性减弱,非气孔因素是限制 P_n 的主要因素。

关键词 百合;盐胁迫;生理指标;解剖结构;主成分分析

中图分类号 S682.2 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2024)01-0166-10

土壤盐渍化是世界土地荒漠化和土地退化的主要类型之一^[1],目前全球盐渍土壤面积约8.33亿hm²,占地球面积的8.7%。土壤盐渍化导致土壤生产力下降,给农林业生产及生态安全造成极大威胁^[2-5]。盐胁迫下,植物能够通过游离脯氨酸、可溶性蛋白等渗透调节物质的积累,发挥调节渗透势的作用,以增强抗逆性^[6-7]。同时,Na⁺的过量吸收易造成Mg²⁺吸收的相对缺乏,降低叶绿素等相关色素含量,进而抑制植物光合作用^[3]。叶片作为重要的光合器官,对环境变化敏感且可塑性较强^[8]。相较于叶片形态特征,叶片解剖结构不仅是感知逆境的微观组织,也最能体现植物对生境的变异性。叶片组织结构对盐反应复杂而高度可变,且与植物的生理活动联系密切。因此,不同盐浓度环境对叶片解剖结构的影响和盐环境下叶片抗逆组织学以及生理活动响应机制仍需进

一步研究。

百合(*Lilium*)为百合科百合属多年生草本植物,花姿雅致、富有营养,有极高的观赏、药用价值。但百合对土壤盐十分敏感,属于盐敏感植物,土壤盐度过高直接影响其正常生长和发育,导致减产甚至植株死亡^[9]。作为典型的观赏植物,百合抗盐性已被众多学者高度重视,但目前研究主要集中于盐胁迫下百合生理响应及资源引种等方面^[10],而有关盐胁迫对其叶片解剖结构及生理学系统性研究尚处空白。鉴于此,本试验选用NaCl模拟盐渍化土壤,挑选深受消费市场青睐的东方百合与喇叭百合的杂交品种‘红色宫殿’作为试验材料,研究不同盐浓度下百合生理特性及叶片解剖结构耦合响应机制,并对百合耐盐性进行综合分析,明确百合耐盐阈值及适生区域,从而为该品种百合在盐渍化地区的推广栽培提供理论依据。

收稿日期:2023-08-13

基金项目:河南省科技攻关计划项目(232102110179);河南省高等学校重点科研项目(21B220001);河南牧业经济学院博士科研启动资金项目(2018HNUAHEDF018;2018HNUAHEDF019)

宗建伟,E-mail:acbcjw@163.com

通信作者:杨雨华,E-mail:yyzdx2003@163.com

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验地点为河南牧业经济学院龙子湖校区园林苗圃($113^{\circ}80' E$, $34^{\circ}80' N$), 该地区属北温带大陆性季风气候, 四季分明。年平均气温 $15.6^{\circ}C$, 年平均降雨量 542.15 mm , 无霜期 209 d , 年日照时间约 1869.7 h 。

2019年3月选取饱满、无病虫害、无机械损伤且大小一致的OT杂交系百合‘红色宫殿’(*Lilium ‘Red palace’*)种球, 多菌灵浸泡消毒 20 min 后, 栽植在基质为河沙:草炭土:珍珠岩(体积比为 $2:2:1$)的聚乙烯塑料花盆(上口径 26.5 cm , 下口径 22.5 cm , 高度 17.6 cm)内, 置于苗圃大棚内进行避雨栽培。

1.2 试验设计

待出苗整齐后, 选取生长健壮且长势基本一致的种苗进行 NaCl 盐胁迫处理。共设置5个处理梯度, 分别为0(CK)、50、100、150、200 mmol/L , 每个处理5盆, 共25盆, 每 3 d 浇灌1次, 分4次进行。试验期间, 盆底塑料托盘内渗出的盐分及时返还盆中, 确保盆中盐分总量。各处理达到设定浓度时, 即为胁迫处理 0 d , 此后进行常规管理, 定时浇水。于处理后 0 、 15 、 30 d 时选取位于植株中上部的功能叶进行生理测定, 30 d 测定生长、光合指标并进行解剖结构观察。

1.3 测定指标及方法

1) 光合指标的测定。于 $09:00$ — $11:00$, 选取每个处理完全展开的功能叶, 使用Li-6800便携式光合仪(LI-COR Inc, USA)测定净光合速率(photosynthetic rate, P_n)、蒸腾速率(transpiration rate, T_r)、气孔导度(stomatal conductance, G_s)、胞间 CO_2 浓度(inter-cellular CO_2 concentration, C_i), 3次生物学重复。叶室光强为 $1\,000\text{ }\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, CO_2 浓度为环境 CO_2 浓度, 温度为 25°C 。

2) 生理指标的测定。叶绿素含量采用分光光度法测定^[11], 游离脯氨酸(proline, Pro)含量采用酸性茚三酮法测定^[12]、可溶性蛋白(soluble protein, SP)含量采用考马斯亮蓝法测定^[13]、丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定^[13]。

3) 形态指标的测定。盐处理 30 d 时, 选取相同叶位的叶片和花蕾, 利用直尺测量其花蕾长度、花蕾直径、叶长、叶宽, 记录叶片数并计算叶片长宽比。

4) 解剖结构的观察。处理 30 d 后, 采集各处理同叶位叶片, 常规石蜡切片法制片^[14], 番红-固绿双

重染色, 阿拉伯树胶封片。在Motic BA210光学显微镜下进行观察拍照, 使用Motic Images Advanced3.2软件测量叶片厚度(leaf thickness, LT)、上表皮厚度(upper epidermis thickness, UE)、下表皮厚度(lower epidermis thickness, LE)、海绵组织厚度(spongy tissue thickness, ST)、栅栏组织厚度(palisade tissue thickness, PT), 每个结构参数均为20个视野范围内测定的平均值, 计算叶片细胞结构紧密度(cell tense ratio, CTR)、组织结构疏松度(spongy ratio, SR)、栅海比(palisade tissue thickness/spongy tissue thickness ratio, P/S)。

1.4 数据处理

采用Microsoft Excel 2010进行数据整理, 并用Origin 9.0软件制图, 运用SPSS 24.0软件进行单因素方差分析、相关性分析及主成分分析。

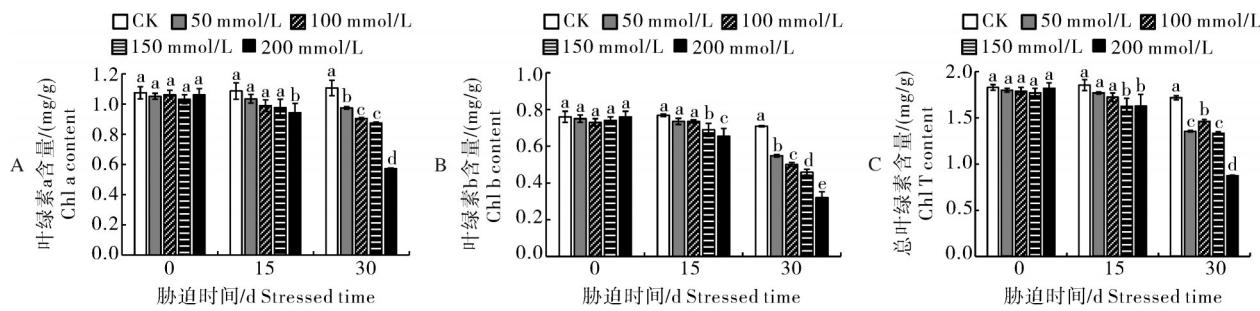
2 结果与分析

2.1 NaCl 处理对百合叶片叶绿素含量的影响

如图1所示, 随着盐浓度的升高及胁迫时间的延长, 百合叶片的叶绿素a(Chl a)、叶绿素b(Chl b)、总叶绿素含量(Chl T)均呈下降趋势。其中, 0 d 时, 各浓度间叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素含量差异不显著($P>0.05$)。胁迫处理 15 d 时, 随着盐浓度的增加, 各指标均有小幅降低。胁迫处理 30 d 时, 叶绿素a、叶绿素b在 200 mmol/L 处理明显降低, 分别比CK下降了 48.65% 和 54.93% 。此外, 30 d 时不同盐浓度处理下(除CK以外), 总叶绿素含量同样出现下降趋势。

2.2 NaCl 处理对百合叶片渗透调节物质及丙二醛含量的影响

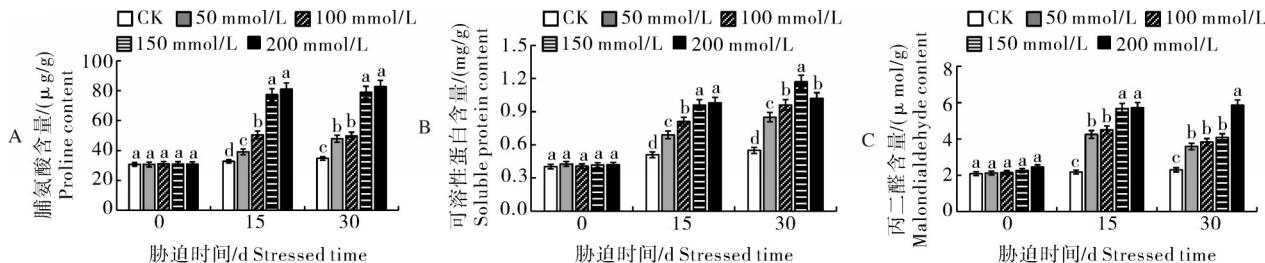
如图2所示, 胁迫 15 d 时, 叶片中的游离脯氨酸、可溶性蛋白、丙二醛含量均随着处理浓度的增加而升高, 并在 200 mmol/L 处理下达到最大值, 分别是CK的 2.48 、 1.92 和 2.62 倍。胁迫 30 d 时, 游离脯氨酸含量在 200 mmol/L 达到峰值, 是CK的 2.38 倍; 可溶性蛋白含量随盐浓度的升高呈先升再降的趋势, 且在 150 mmol/L 处理出现最高值, 为CK的 2.13 倍; 丙二醛含量仅在 200 mmol/L 处理与其他各处理相比出现了显著的升高($P<0.05$), 为CK的 2.55 倍。同时, 随着胁迫时间延长, 中低浓度($50\sim 150\text{ mmol/L}$)处理下的丙二醛含量均呈先升高后降低的趋势, 叶片脯氨酸含量逐步升高, 仅在 100 mmol/L 处理下呈先升后降的趋势, 可溶性蛋白含量逐渐增加。



A:叶绿素a含量 Chl a content; B:叶绿素b含量 Chl b content; C:总叶绿素含量 Chl T content. 不同小写字母表示在0.05水平上差异显著。下同。Different lowercase letters indicate significant difference at 0.05 level. The same as follows.

图1 不同浓度NaCl处理百合光合色素含量的变化

Fig.1 Changes of photosynthetic pigment content in lily under NaCl treatment



A:脯氨酸含量 Proline content; B:可溶性蛋白含量 Soluble protein content; C:丙二醛含量 Malondialdehyde content.

图2 不同浓度NaCl处理百合渗透调节物质及丙二醛含量的变化

Fig.2 Changes of osmotic adjustment substances and malondialdehyde in lily under NaCl treatment

2.3 NaCl处理对百合叶片光合参数的影响

由表1可以看出,胁迫处理30 d时,净光合速率、蒸腾速率、气孔导度随盐浓度的升高均呈下降趋势,胞间CO₂浓度呈先降低后升高趋势,而水分利用效率呈先升高后降低趋势。净光合速率、蒸腾速率、气孔导度均在盐浓度为200 mmol/L时达到最小值,

与CK相比分别显著降低了82.84%、75.74%和88.78%($P<0.05$) ;胞间CO₂浓度在盐浓度为100 mmol/L时达到最低值,比CK降低了8.51%,显著低于其他处理组($P<0.05$) ;水分利用效率在盐浓度为100 mmol/L时达到最大值,相比CK升高了32.65%。

表1 不同浓度NaCl处理30 d百合叶片光合参数的变化

Table 1 Changes of photosynthetic parameters of lily leaves under different NaCl concentrations treatment for 30 days

NaCl浓度/ (mmol/L)	净光合速率/ [μmol/(m ² ·s)]	蒸腾速率/ [mmol/(m ² ·s)]	气孔导度/ [mol/(m ² ·s)]	胞间CO ₂ 浓度/ (μmol/mol)	水分利用效率/ (μmol/mmol)
NaCl concentration	Photosynthetic rate (P_n)	Transpiration rate (T_r)	Stomatal conductance (G_s)	Intercellular CO ₂ concentration (C_i)	Water use efficiency (WUE)
0 (CK)	1.34±0.12a	1.36±0.02a	33.77±4.25a	440.63±2.26b	0.98±0.08b
50	1.13±0.03b	0.98±0.01b	23.38±0.32b	431.65±2.06c	1.16±0.03a
100	0.83±0.04c	0.64±0.01c	12.50±1.26c	403.18±1.65d	1.30±0.06a
150	0.61±0.05d	0.51±0.02d	10.59±1.09c	444.58±2.50b	1.19±0.07a
200	0.23±0.01e	0.33±0.05e	3.79±0.37d	490.05±2.16a	0.70±0.11c

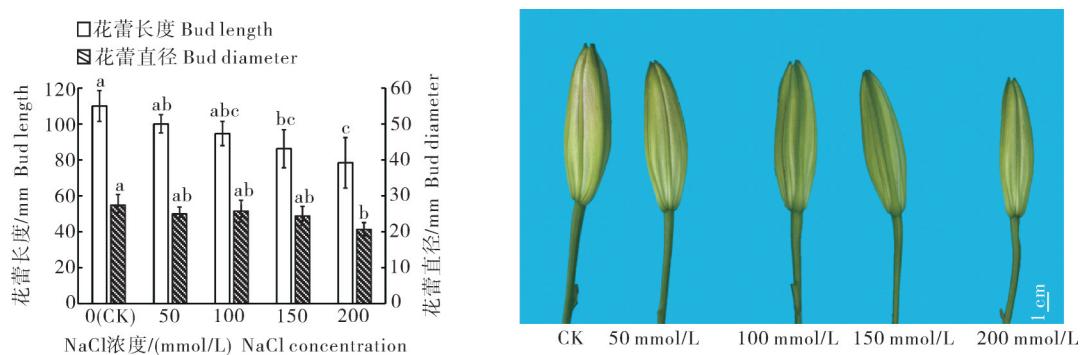
注:同列不同小写字母表示在0.05水平上差异显著。下同。Note: Different lowercase letters in each column indicate significant difference at 0.05 level. The same as follows.

2.4 NaCl处理对百合花蕾生长和叶片形态生长的影响

盐浓度的持续升高引起百合的花蕾长度、花蕾直径逐渐下降(图3)。其中,200 mmol/L盐浓度处理下花蕾长度、花蕾直径相对于CK显著下降了

28.76%和24.65%($P<0.05$)。

由表2可见,随着盐浓度的升高,百合叶片数、叶长、叶宽均持续下降。与CK相比,NaCl处理下的百合叶片数差异显著($P<0.05$),且百合叶宽在中高浓度(150~200 mmol/L)处理与CK存在显著差异



不同小写字母表示同组不同处理间在0.05水平上差异显著。Different lowercase letters in different treatments of same group indicate significant difference at 0.05 level.

图3 不同浓度NaCl处理30 d百合花蕾生长变化

Fig.3 Changes of bud growth of lily under different NaCl concentrations treatment for 30 days

表2 不同浓度NaCl处理30 d百合叶片形态变化

Table 2 Changes of leaf morphology of lily under different NaCl concentrations treatment for 30 days

NaCl浓度/(mmol/L) NaCl concentration	叶片数 Number of leaves	叶长/mm Leaf length	叶宽/mm Leaf width	长宽比 Length-width ratio
0 (CK)	52.67±2.52a	113.57±6.11a	29.01±1.89a	3.92±0.05a
50	46.33±3.06b	104.68±4.45ab	28.16±1.35ab	3.72±0.26a
100	42.67±3.06bc	100.30±4.61ab	26.12±1.31ab	3.84±0.20a
150	41.33±1.53bc	98.84±10.70b	24.57±3.33bc	4.10±0.91a
200	37.67±3.51c	96.05±6.15b	20.99±1.39c	4.60±0.54a

($P<0.05$)。叶片长宽比在200 mmol/L盐浓度处理下达到最大值。

2.5 NaCl处理下百合叶片解剖结构的变化

如表3和图4所示,百合的叶片厚度、上表皮厚度、下表皮厚度、栅栏组织厚度均随盐浓度的增加而发生不同程度的削减,海绵组织厚度则呈逐渐升高趋势。在盐浓度200 mmol/L时,叶片厚度、上表皮厚度、下表皮厚度、栅栏组织厚度与CK相比分别显著降低了32.95%、38.26%、46.71%和28.41%,而海绵组织厚度与CK相比增加了

32.41%。随着盐浓度的增加,SR持续增大,而P/S降低。

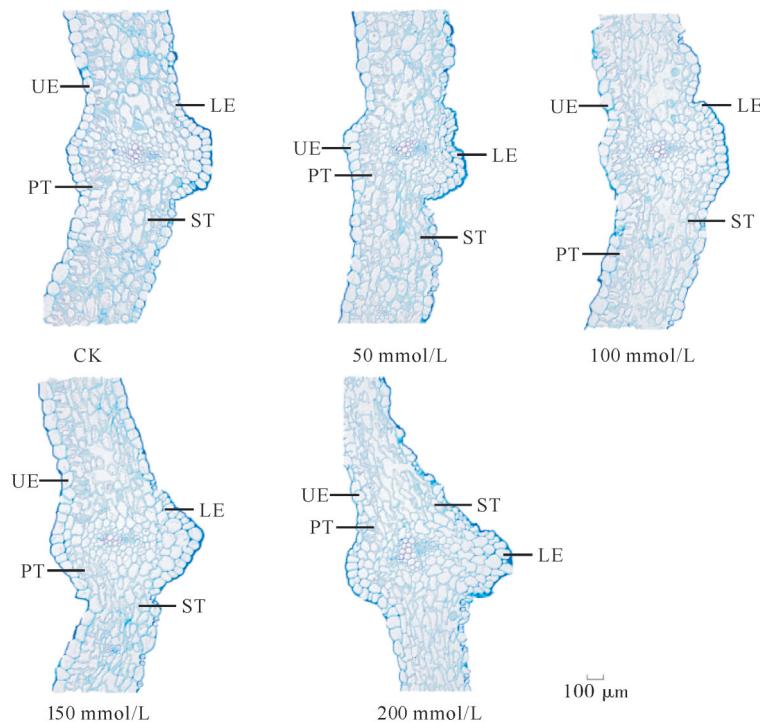
2.6 百合耐盐能力综合评价

由图5可知,百合的 T_r 与 G_s 呈极显著正相关关系($P<0.01$); P_n 与 T_r 、Chl b、LT呈显著正相关关系($P<0.05$),与Pro呈显著负相关关系($P<0.05$)。此外,在24个指标中,提取出了4个主成分,第一主成分综合了 P_n 、 T_r 、 G_s 、Chl T、MDA等指标信息,贡献率为44.050%,第二主成分综合了WUE、 C_i 等指标信息,贡献率为62.309%,第三主成分综合了P/S、ST、

表3 不同浓度NaCl处理30 d百合叶片解剖结构指标的变化

Table 3 Changes of leaf anatomical structure indexes of lily under different NaCl concentrations treatment for 30 days

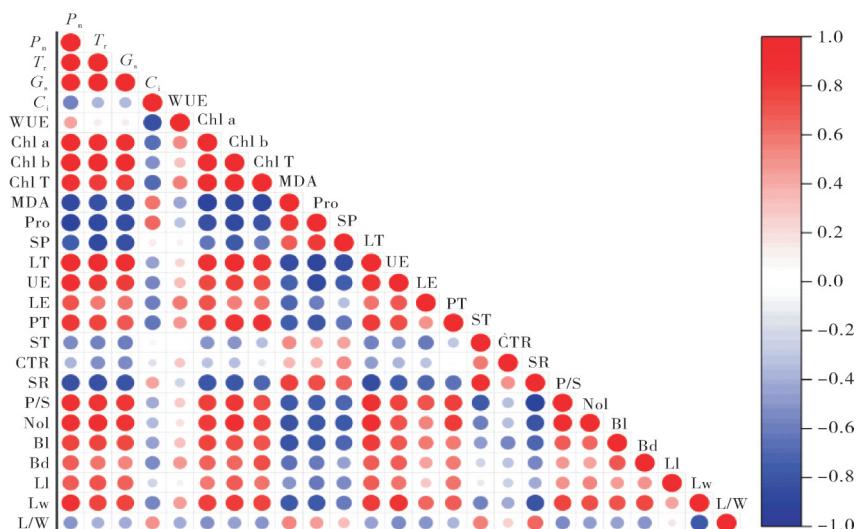
NaCl浓度/ (mmol/L) NaCl concen- tration	叶片厚度/ μm (LT)	上表皮厚 度/μm Upper epider- mis thickness (UE)	下表皮厚 度/μm Lower epider- mis thickness (LE)	栅栏组织 厚度/μm Palisade tissue thickness (PT)	海绵组织 厚/μm Spongy tissue thickness (ST)	细胞结构紧 密度/% Cell tense ratio (CTR)	组织结构 疏松度/% Spongy ratio (SR)	栅海比 Palisade tis- sue thickness/ Spongy tissue thickness ra- tio (P/S)
0 (CK)	500.21±43.95a	80.98±7.17a	55.98±10.92a	72.08±10.56a	193.13±12.93b	0.14±0.01a	0.39±0.02d	0.37±0.03a
50	471.06±39.16a	79.16±8.17a	53.91±9.99a	71.39±12.45a	209.47±46.41ab	0.15±0.02a	0.44±0.07cd	0.35±0.05ab
100	409.08±22.92b	67.27±6.07b	44.50±3.24a	66.98±9.28ab	225.88±34.82ab	0.17±0.03a	0.56±0.11bc	0.30±0.04bc
150	339.41±21.02c	52.87±2.37c	52.02±9.05a	55.13±8.69bc	223.83±11.17ab	0.16±0.02a	0.66±0.06ab	0.25±0.04cd
200	335.38±51.68c	50.00±7.78c	29.83±6.08b	51.60±2.79c	255.72±38.16a	0.16±0.02a	0.78±0.17a	0.21±0.04d



UE:上表皮 Upper epidermis; LE:下表皮 Lower epidermis; PT:栅栏组织 Palisade tissue; ST:海绵组织 Spongy tissue.

图4 不同浓度NaCl处理30 d百合叶片解剖结构($\times 100$)

Fig.4 Leaf anatomical structure of lily leaves under different NaCl concentrations treatment for 30 days($\times 100$)



P_n :净光合速率 Photosynthetic rate; T_r :蒸腾速率 Transpiration rate; G_s :气孔导度 Stomatal conductance; C_i :胞间 CO_2 浓度 Intercellular CO_2 concentration; WUE:水分利用效率 Water use efficiency; Chl a:叶绿素a含量 Chl a content; Chl b:叶绿素b含量 Chl b content; Chl T:总叶绿素含量 Chl T content; MDA:丙二醛含量 Malondialdehyde content; Pro:脯氨酸含量 Proline content; SP:可溶性蛋白含量 Soluble protein content; LT:叶片厚度 Leaf thickness; UE:上表皮厚度 Upper epidermis thickness; LE:下表皮厚度 Lower epidermis thickness; PT:栅栏组织厚度 Palisade tissue thickness; ST:海绵组织厚度 Spongy tissue thickness; CTR:细胞结构紧密度 Cell tense ratio; SR:组织结构疏松度 Spongy ratio; P/S:栅海比 Palisade tissue thickness/Spongy tissue thickness ratio; Nol:叶片数 Number of leaves; Bl:花蕾长度 Bud length; Bd:花蕾直径 Bud diameter; Ll:叶片长 Leaf length; Lw:叶片宽 Leaf width; L/W:叶宽比 Length-width ratio。下同。The same as follows. 图中不同颜色及不同大小表示相关性强弱。Different colors and different sizes indicate the correlation strength.

图5 相关性分析热图

Fig.5 The correlation heat map

SR等指标信息,贡献率为79.975%,第四主成分为CTR,贡献率为89.964%(表4)。由表5可得出,百合在盐浓度大于100 mmol/L时,综合得分显著下降

至0以下,说明百合具有一定耐盐性,在50~100 mmol/L的NaCl条件下可以正常生长,浓度大于100 mmol/L的条件下不适宜生长。

表4 主成分分析旋转后的成分载荷矩阵

Table 4 Rotated component matrix of principal component analysis

指标 Index	第一主成分 The first principal component	第二主成分 The second principal component	第三主成分 The third principal component	第四主成分 The forth principal component	指标 Index	第一主成分 The first principal component	第二主成分 The second principal component	第三主成分 The third principal component	第四主成分 The forth principal component
	The first principal component	The second principal component	The third principal component	The forth principal component		The first principal component	The second principal component	The third principal component	The forth principal component
T_r	0.885	0.111	0.345	0.277	UE	0.682	0.361	0.318	0.346
Chl b	0.869	0.301	0.309	0.147	Bl	0.581	0.318	0.279	0.556
Ll	0.857	0.057	-0.233	0.149	Lw	0.530	0.478	0.467	0.395
LT	0.855	0.214	0.353	0.290	WUE	0.052	0.959	0.071	-0.105
G_s	0.838	0.110	0.377	0.288	C_i	-0.282	-0.896	-0.119	0.030
Nol	0.824	0.113	0.484	0.016	Bd	0.440	0.576	0.028	0.547
PT	0.822	0.453	0.180	-0.154	ST	-0.270	0.073	-0.905	-0.172
SP	-0.812	0.120	-0.256	-0.361	SR	-0.580	-0.214	-0.717	-0.220
P_n	0.806	0.385	0.354	0.230	L/W	-0.037	-0.492	-0.694	-0.293
Pro	-0.790	-0.354	-0.230	-0.290	LE	0.336	0.493	0.581	0.131
Chl T	0.755	0.566	0.200	0.091	CTR	-0.208	0.238	-0.299	-0.867
Chl a	0.728	0.489	0.348	0.161	特征值 Eigen values	11.013	4.565	4.416	2.497
P/S	0.724	0.193	0.630	0.027	方差贡献率/% Proportion of variance	44.050	18.259	17.666	9.989
MDA	-0.686	-0.436	-0.393	-0.236	累计贡献率/% Cumulative variance	44.050	62.309	79.975	89.964

表5 百合NaCl处理的综合得分及其排名

Table 5 The comprehensive score and ranking of lily under NaCl treatment

NaCl浓度/(mmol/L) NaCl concentration	第一主成分 PC1(F1)	第二主成分 PC2(F2)	第三主成分 PC3(F3)	第四主成分 PC4(F4)	综合得分(F) Comprehensive score	综合得分排名 Comprehensive score ranking
0 (CK)	1.685 95	-0.349 52	0.583 14	0.379 42	81.975 97	1
50	-0.169 73	1.296 95	0.373 08	-0.291 91	19.879 22	2
100	0.013 96	0.146 83	0.437 66	0.474 37	15.765 93	3
150	-0.700 59	0.425 61	-0.003 33	-0.553 74	-28.679 88	4
200	-0.829 58	-1.519 86	-1.276 43	-0.008 14	-86.924 84	5

3 讨论

3.1 NaCl胁迫对百合叶片渗透调节物质及丙二醛含量的影响

植物在逆境环境下,常通过积累脯氨酸(Pro)和可溶性蛋白(SP)等渗透调节物质来降低细胞水势,缓解逆境伤害^[15-16]。本研究发现,随着盐浓度升高与胁迫时间的延长,叶片中Pro、SP大量积累,说明在盐胁迫下,百合通过提高渗透调节能力来增强植

株抗性。胁迫30 d时,叶片中SP含量随着胁迫浓度的增加呈先升后降的趋势,杠柳幼苗对盐胁迫的生理响应中发现类似的结果^[17],推测可能是高浓度盐抑制SP合成或是在抵御胁迫时SP被分解^[18]。此外,丙二醛(MDA)是膜脂过氧化的最终分解产物,其含量的多少能够反映植物遭受逆境伤害的程度^[19]。本研究发现,MDA含量随盐浓度的增加呈上升趋势,在中低浓度(50~150 mmol/L)处理下,随时间延长,叶片MDA含量均呈先升后降的趋势,200

mmol/L 处理下则持续升高。这可能是中低浓度盐胁迫对百合细胞膜脂过氧化影响较小,细胞能够在此浓度范围内自我修复;而高浓度盐胁迫超出细胞的自我修复能力,导致细胞膜受损严重,且难以恢复,持久高盐胁迫细胞会死亡^[20-21]。

3.2 NaCl 胁迫对百合叶片叶绿素含量及光合参数的影响

叶绿素是植物光合作用的物质基础,其含量在一定程度上体现植物对环境胁迫的耐受性^[22]。李瑞强等^[23]的研究认为,盐胁迫可活化叶绿素酶,加速叶绿素的降解。本试验中,盐胁迫 15 d 时,Chl a 和 Chl b 有小幅降低,这可能是由于根系中积累的 Na^+ 影响了镁螯合反应,使叶绿素合成受阻^[24];而盐胁迫 30 d 后,叶绿素各组分含量较 CK 组显著下降($P < 0.05$),说明长时间的盐胁迫可能使 Na^+ 持续积累,细胞膜内外渗透势失衡,叶绿体结构受到不可逆损伤,最终导致叶绿素含量显著下降^[25-26]。信龙飞等^[27]研究发现,叶绿素是植物进行光能转化吸收以及光化学反应的重要物质基础。本试验相关性分析表明,总叶绿素含量与 P_n 呈显著正相关,可见百合叶片叶绿素含量降低是光合作用被抑制的重要原因。前人的研究证实, P_n 的降低主要受气孔和非气孔因素的影响^[28],低盐胁迫下气孔因素是影响 P_n 下降的主要因素,而高盐胁迫下非气孔因素是制约 P_n 下降的主要因素^[28-29]。在本研究中,百合在 50 mmol/L 盐处理下, G_s 和 C_i 均降低;大于 50 mmol/L 时, P_n 和 G_s 均明显下降,而 C_i 激增,且 C_i 在盐浓度为 200 mmol/L 时显著高于 CK ($P < 0.05$),可能原因是百合在低浓度盐胁迫下,气孔因素是限制 P_n 的主要因素;在高浓度盐胁迫下,非气孔因素成为限制 P_n 的主要因素^[30]。Yang 等^[4]研究表明,盐环境下植物降低 G_s 以减少水分的散失, T_r 下降有利于减少盐分运输,最终缓解盐分对植物的毒害。相关性分析结果显示,百合的 T_r 与 G_s 呈极显著正相关,且盐浓度升高造成 T_r 与 G_s 下降,这表明在盐胁迫下百合通过自身调节减少了水分损失,缓解盐分的毒害作用。此外,WUE 在盐浓度为 100 mmol/L 时达到最大值,且主成分分析也证明了盐浓度大于 100 mmol/L 条件不适宜百合生长。由此可见,100 mmol/L 盐处理可能是本试验‘红色宫殿’百合适应胁迫的临界点。

3.3 NaCl 胁迫对百合生长和叶片解剖结构的影响

有研究表明,由 Na^+ 超载引发的渗透胁迫和离子毒害明显抑制植物生长^[31]。植物为适应盐生环境,常通过叶片卷曲或减小叶片长度以适当降低其蒸腾速率^[23, 32]。本研究结果发现,盐浓度升高引起百合叶片长、宽降低,说明百合在盐生环境中会改变叶形,降低其蒸腾速率。此外,较低浓度盐处理(50 mmol/L)抑制百合叶片及花蕾生长,与东方百合在盐胁迫下的变化规律相似^[33],这可能因为该百合品种对盐分具有较强敏感性。

叶片解剖结构能够直观反映植物对环境的适应性^[34]。盐胁迫下,叶片细胞易受渗透影响,导致表皮细胞及叶片厚度减小^[35-36]。本研究中,随盐浓度升高,百合叶片厚度、上下表皮厚度呈下降趋势,且在浓度大于 100 mmol/L 时,叶片厚度及上表皮厚度受到显著抑制($P < 0.05$),表明较高浓度盐胁迫会明显抑制叶片的生长发育。本试验还发现,盐胁迫导致百合叶片栅栏组织变薄,海绵组织增厚,SR 值逐渐升高,可能与盐胁迫阻碍叶片水分代谢和细胞分裂有着密切关系^[37]。Parida 等^[38]研究也表明,高浓度 NaCl 处理下小花木榄(*Bruguiera parviflora*)叶片细胞间隙与栅栏组织直径均减小,叶肉组织厚度变薄,以响应盐胁迫。

综上, Na^+ 超载对百合的生理、生长产生了显著的抑制效应,NaCl 浓度 100 mmol/L 为百合耐盐阈值, P_n 、 T_r 、 G_s 、Chl b、LT 和 Pro 等指标可以评价百合的耐盐能力。尽管本试验揭示了盐胁迫下百合生理特性及叶片解剖结构耦合应答机制,但对于外源物质调控与分子机制仍未明确,未来将利用转录组测序技术(RNA-seq)与外源物质处理(如:褪黑素、硅肥及脱落酸等)进一步深入探究百合耐盐生理学、解剖学和分子生物学互作调控机制。

参考文献 References

- [1] 陈澍,蔡世平,姜维,等.两种桑树对盐胁迫的生理响应[J].黑龙江农业科学,2022(12):24-28.CHEN S, CAI S P, JIANG W, et al. Physiological responses of two mulberry species to salt stress [J]. Heilongjiang agricultural sciences, 2022 (12):24-28 (in Chinese with English abstract).
- [2] ZONG J W, ZHANG Z L, HUANG P L, et al. Growth, physiological, and photosynthetic responses of *Xanthoceras sorbifolium* Bunge seedlings under various degrees of salinity [J/OL]. Frontiers in plant science, 2021, 12: 730737 [2023-08-13].

- https://doi.org/10.3389/fpls.2021.730737.
- [3] 齐琪,马书荣,徐维东.盐胁迫对植物生长的影响及耐盐生理机制研究进展[J].分子植物育种,2020,18(8):2741-2746.QI Q,MA S R,XU W D.Advances in the effects of salt stress on plant growth and physiological mechanisms of salt tolerance [J].Molecular plant breeding, 2020, 18 (8) : 2741-2746 (in Chinese with English abstract).
- [4] YANG J Y,ZHENG W,TIAN Y,et al.Effects of various mixed salt-alkaline stresses on growth, photosynthesis, and photosynthetic pigment concentrations of *Medicago ruthenica* seedlings[J].Photosynthetica,2011,49(2):275-284.
- [5] KATERJI N,VAN HOORN J W,HAMDY A,et al.Salinity effect on crop development and yield, analysis of salt tolerance according to several classification methods[J].Agricultural water management,2003,62(1):37-66.
- [6] CHEN L,LIU L T,LU B,et al.Exogenous melatonin promotes seed germination and osmotic regulation under salt stress in cotton (*Gossypium hirsutum* L.)[J/OL].PLoS One,2020,15(1):e0228241 [2023-08-13]. https://doi. org/10.1371/journal. pone.0228241.
- [7] 赵佳伟,李清亚,路斌,等.不同品种北美豆梨对NaCl胁迫的生理响应及耐盐性评价[J].植物生理学报,2019,55(1):23-31.ZHAO J W,LI Q Y,LU B,et al.Physiological characteristics and comprehensive evaluation of *Pyrus calleryana* Decne. under NaCl stress[J].Plant physiology journal, 2019, 55 (1) : 23-31 (in Chinese with English abstract).
- [8] 贾文飞,魏晓琼,聂小兰,等.盐碱胁迫对越橘生理特性及叶片解剖结构的影响[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2022,50(5):115-126.JIA W F,WEI X Q,NIE X L,et al.Effects of saline-alkali stress on physiological characteristics and anatomic structure of blueberry leave[J].Journal of Northwest A & F University (natural science edition),2022,50(5):115-126 (in Chinese with English abstract).
- [9] 华智锐,马峰旺,李小玲,等.百合转S6PDH基因植株的抗盐性鉴定[J].干旱地区农业研究,2010,28(1):160-163.HUA Z R,MA F W,LI X L,et al.Salt-resistance identification of transformed *Lilium* with S6PDH gene [J].Agricultural research in the arid areas, 2010, 28 (1) : 160-163 (in Chinese with English abstract).
- [10] 李金鹏,郑春雨,刘井莉.百合属植物的研究进展[J].北方园艺,2013(7):197-200.LI J P,ZHENG C Y,LIU J L.Research progress on *Lilium* plants [J].Northern horticulture, 2013(7):197-200 (in Chinese with English abstract).
- [11] 贾旭梅,朱燕芳,王海,等.垂丝海棠应对盐碱复合胁迫的生理响应[J].生态学报,2019,39(17):6349-6361.JIA X M,ZHU Y F,WANG H,et al.Study on physiological response of *Malus halliana* to saline-alkali stress[J].Acta ecologica sinica, 2019,39(17):6349-6361 (in Chinese with English abstract).
- [12] 王学奎.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2006:249-261.WANG X K.Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006:249-261(in Chinese).
- [13] 高俊凤.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2006: 339-351.GAO J F.Experimental guidance for plant physiology[M].2nd ed.Beijing:Higher Education Press,2006: 339-351 (in Chinese).
- [14] 周乃富,张俊佩,刘昊,等.木本植物非均质化组织石蜡切片制作方法[J].植物学报,2018,53(5):653-660.ZHOU N F,ZHANG J P,LIU H,et al.New protocols for paraffin sections of heterogeneous tissues of woody plants [J].Chinese bulletin of botany, 2018, 53 (5) : 653-660 (in Chinese with English abstract).
- [15] 胡爱双,张小栋,王文成,等.盐胁迫对不同耐盐性八棱海棠株系生理特性的影响[J].果树学报,2021,38(3):335-343.HU A S,ZHANG X D,WANG W C,et al.Effects of salt stress on physiological characteristics of two strains of *Malus micromalus* Mak. with different salt tolerance [J].Journal of fruit science, 2021, 38 (3) : 335-343 (in Chinese with English abstract).
- [16] ÇELİK Ö,ATAK Ç.The effect of salt stress on antioxidative enzymes and proline content of two Turkish tobacco varieties [J].Turkish journal of biology,2012,36(3):339-356.
- [17] 韩翠婷,李先宽,王广革,等.杠柳幼苗对盐胁迫的生理响应及耐盐机理研究[J].中药材,2022,45(10):2292-2296.HAN C T,LI X K,WANG G P,et al.Study on physiological response and salt tolerance mechanism in salt-stress of *Periploca sepium* seedlings[J].Journal of Chinese medicinal materials, 2022, 45 (10) : 2292-2296 (in Chinese with English abstract).
- [18] 张婷,徐捷,李名扬,等.4种野生百合对盐碱胁迫生理响应的初步研究[J].西南林业大学学报(自然科学版),2021,41(6):22-30.ZHANG T,XU J,LI M Y,et al.Preliminary study on physiological response of 4 wild lily species under salt-alkali stress[J].Journal of Southwest Forestry University (natural science edition), 2021, 41 (6) : 22-30 (in Chinese with English abstract).
- [19] AHMAD P,HASHEM A,ABD-ALLAH E F,et al.Role of *Trichoderma harzianum* in mitigating NaCl stress in Indian mustard (*Brassica juncea* L.) through antioxidative defense system[J/OL].Frontiers in plant science, 2015, 6:868 [2023-08-13].https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00868.
- [20] 陆安桥,张峰举,许兴,等.盐胁迫对湖南稻子苗期生长及生理特性的影响[J].草业学报,2021,30(5):84-93.LU A Q,ZHANG F J,XU X,et al.Effects of salt stress on growth and physiological characteristics of *Echinochloa frumentacea* seedlings[J].Acta prataculturae sinica, 2021, 30 (5) : 84-93 (in Chinese with English abstract).

- [21] 同永庆,朱虹,刘兴亮,等.盐胁迫对紫穗槐生长发育及生理特性的影响[J].东北农业大学学报,2008,39(12):31-35.
YAN Y Q, ZHU H, LIU X L, et al. Effect of salt stress on *Amorpha fraticosa* L. growth and physiological index[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2008, 39(12): 31-35 (in Chinese with English abstract).
- [22] ZHAO H Y, LIANG H Y, CHU Y B, et al. Effects of salt stress on chlorophyll fluorescence and the antioxidant system in *Ginkgo biloba* L. seedlings[J]. Hortscience, 2019, 54(12): 2125-2133.
- [23] 李瑞强,王玉祥,孙玉兰,等.盐胁迫对无芒雀麦幼苗叶片形态及解剖结构的影响[J].草地学报,2022,30(6):1450-1459.
LI R Q, WANG Y X, SUN Y L, et al. Effects of salt stress on leaf morphology and anatomical structure of *Bromus inermis* seedlings[J]. Acta agrestia sinica, 2022, 30(6): 1450-1459 (in Chinese with English abstract).
- [24] 刘子琦,汪佳.镁螯合酶的结构与功能[J].中国生物化学与分子生物学报,2018, 34(1): 18-24.LIU Z Q, WANG J. Structure and function of the magnesium chelatase[J]. Chinese journal of biochemistry and molecular biology, 2018, 34(1): 18-24 (in Chinese with English abstract).
- [25] FOAD M, ISMAIL A M. Responses of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and ROS-scavenging systems to salt stress during seedling and reproductive stages in rice[J]. Annals of botany, 2007, (6): 1161-1173.
- [26] 王瀚祥,李广存,徐建飞,等.植物耐盐机理研究进展[J].作物杂志,2022,22(5): 1-12.WANG H X, LI G C, XU J F, et al. Advances in research on salt tolerance mechanism of plants [J]. Crops, 2022, 22(5): 1-12 (in Chinese with English abstract).
- [27] 信龙飞,谷彩花,张艳玲,等.盐胁迫对桔梗种子萌发和幼苗光合特性的影响[J].种子,2022,41(9):40-46,52.XIN L F, GU C H, ZHANG Y L, et al. Effects of salt stress on seed germination and photosynthetic characteristics of *Platycodon grandiflorum* seedlings[J]. Seed, 2022, 41(9): 40-46 (in Chinese with English abstract).
- [28] MAFAKHERI A, SIOSEMARDEH A, BAHRAMNEJAD B, et al. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars[J]. Australian journal of crop science, 2010, 4(8):580-585.
- [29] 刘建新,王金成,王瑞娟,等.混合盐碱胁迫对燕麦幼苗矿质离子吸收和光合特性的影响[J].干旱地区农业研究,2017, 35(1):178-184,239.LIU J X, WANG J C, WANG R J, et al. Effect of complex saline-alkali stress on the mineral ions absorption and photosynthetic characteristics of oat seedlings[J]. Agricultural research in the arid areas, 2017, 35(1): 178-184, 239 (in Chinese with English abstract).
- [30] 辛惠卿,霍俊伟.环境胁迫对果树光合作用的影响[J].东北农业大学学报,2008,39(9):130-135.XIN H Q, HUO J W. Effects of environment stress on photosynthesis of fruit trees [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2008, 39(9): 130-135 (in Chinese with English abstract).
- [31] FLOWERS T J, MUNNS R, COLMER T D. Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes[J]. Annals of botany, 2015, 115(3):419-431.
- [32] 王斌,巨波,赵慧娟,等.不同盐梯度处理下沼泽小叶桦的生理特征及叶片结构[J].林业科学,2011, 47(10): 29-36.
WANG B, JU B, ZHAO H J, et al. Photosynthetic performance and variation in leaf anatomic structure of *Betula microphylla* var. *paludosa* under different saline conditions [J]. Scientia silvae sinicae, 2011, 47(10):29-36 (in Chinese with English abstract).
- [33] 常乐,夏宜平.盐胁迫下东方百合的生理生化响应[C]//中国园艺学会观赏园艺专业委员会.中国园艺学会观赏园艺专业委员会2008年学术年会论文集.北京:中国林业出版社, 2008: 452-455.CHANG L, XIA Y P. Physiological and biochemical response of salt stress in oriental lily cultivation[C]// Ornamental horticulture Committee of Chinese Society for Horticultural Science. Proceedings of the 2008 Academic Annual Meeting of Ornamental horticulture Committee of Chinese Society for Horticultural Science, Beijing: China Forestry Publishing House. 2008: 452-455(in Chinese with English abstract).
- [34] 莫惟铁,王瑞丽,高慧蓉,等.黄土高原不同植被带内草地植物叶片解剖性状的变异规律[J].生态学报,2023,43(3): 1135-1146.MO W Y, WANG R L, GAO H R, et al. Variation in leaf anatomical traits of grassland plants in different vegetation zones on the Loess Plateau [J]. Acta ecologica sinica, 2023, 43(3):1135-1146 (in Chinese with English abstract).
- [35] 李芳兰,包维楷,吴宁.白刺花幼苗对不同强度干旱胁迫的形态与生理响应[J].生态学报,2009, 29(10):5406-5416.LI F L, BAO W K, WU N. Morphological and physiological responses of current *Sophora davidii* seedlings to drought stress [J]. Acta ecologica sinica, 2009, 29(10): 5406-5416 (in Chinese with English abstract).
- [36] 张霞,孙旭春,钟小仙,等.海盐胁迫下苏牧2号象草叶片解剖结构的适应性变化[J].江苏农业科学,2014,42(4): 162-164. ZHANG X, SUN X C, ZHONG X X, et al. Adaptive changes of leaf anatomical structure of Sumu No. 2 elephant grass leaves under sea salt stress [J]. Jiangsu agricultural sciences, 2014, 42(4): 162-164 (in Chinese).
- [37] 张德,王双成,张仲兴,等.盐胁迫对2种抗性苹果砧木叶片生理及解剖结构的影响[J].果树学报,2021,38(8):1275-1284.ZHANG D, WANG S C, ZHANG Z X, et al. Effects of salt stress on leaf physiology and anatomical structure of two

- resistant apple rootstocks[J].Journal of fruit science, 2021, 38(8):1275-1284 (in Chinese with English abstract).
- [38] PARIDA A K, DAS A B, MITTRA B. Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora* [J]. Trees, 2004, 18(2): 167-174.

Effects of salt stress on physiological characteristics and leaf anatomical structure of lily

ZONG Jianwei, LI Xiaoqian, ZHANG Chuang, ZHAO Xiaojie, YANG Yuhua

College of Art, Henan University of Animal Husbandry and Economy, Zhengzhou 450046, China

Abstract The bulbs of *Lilium* ‘Red Palace’ were used to study the physiological characteristics of lily in response to salt stress and comprehensively evaluate the salt tolerance of lily. Different concentrations of NaCl including 0 mmol/L, 50 mmol/L, 100 mmol/L, 150 mmol/L, and 200 mmol/L were set up. The effects of salt stress on photosynthetic pigments, photosynthetic parameters, osmoregulatory substances and anatomical structure of leaf were analyzed, correlation analysis and principal component analysis on related indexes were conducted. The results showed that the content of chlorophyll a (Chl a) and chlorophyll b (Chl b) in lily leaves decreased significantly with the prolongation of stress time, while the content of free proline (Pro) and soluble protein continued to increase. The content of malondialdehyde (MDA) had a trend of first increasing and then decreasing under the treatment of 50-150 mmol/L NaCl, and an increasing trend under the treatment of 200 mmol/L NaCl. When subjected to stress for 30 days, the net photosynthetic rate (P_n) and transpiration rate (T_r) of the leaves were inhibited, stomatal conductance (G_s) decreased with the increase of NaCl concentration, intercellular CO₂ concentration (C_i) had a trend of first decreasing and then increasing, while water use efficiency (WUE) had a trend of first increasing and then decreasing. The continuous increase in salt concentration inhibited the growth of lily leaves and buds. The anatomical structure indexes of leaves had a decreasing trend in leaf thickness (LT), upper epidermal thickness (UE), lower epidermal thickness (LE), and palisade tissue thickness (PT), except for an increase in sponge tissue thickness. The spongy ratio (SR) increased, while the palisade tissue thickness/spongy tissue thickness ratio (P/S) decreased. The results of principal component analysis showed that there was a significant positive correlation between P_n and T_r , Chl b, LT, and a significant negative correlation with Pro. It is indicated that the concentration of 100 mmol/L is the salt tolerance threshold for lily, and P_n , T_r , G_s , Chl b, LT, and Pro can be used as effective indexes to evaluate the salt tolerance of lily. Lily mainly alleviate salt damage by reducing T_r , G_s , C_i and accumulating osmoregulatory substances under low salt stress. The growth of lily is hindered, and the stress resistance of leaf anatomical structures is weakened under high salt stress. Non-stomatal factors are the main limiting factors for P_n .

Keywords lily; salt stress; physiological indexes; anatomical structure; principal component analysis

(责任编辑:葛晓霞)