

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2019.11.001

NaCl 胁迫对 5 种柑橘砧木生长及生理特性的影响^①

周心智, 张云贵

重庆市农业科学院 果树研究所/现代农业(柑橘)产业技术体系江津柑橘综合试验站, 重庆 江津 401329

摘要: 以枳、枳橙、沃尔卡默柠檬、硬枝香橙和宜昌橙的老熟幼苗为试材, 在 NaCl 胁迫下, 评价这 5 种柑橘砧木的生长及生理特性。结果发现, NaCl 胁迫处理 21 d 以后, 沃尔卡默柠檬的植株和叶片未出现明显不良症状, 表现出较强的抗盐性, 而枳橙、硬枝香橙抗盐性次之, 宜昌橙和枳对盐比较敏感; 分析 NaCl 胁迫过程中叶片可溶性蛋白、脯氨酸质量分数以及过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)的活性变化, 发现 5 种砧木叶片中可溶性蛋白质量分数变化不大, 脯氨酸质量分数变化明显, 其中枳、枳橙和沃尔卡默柠檬叶片的脯氨酸质量分数显著增加, 枳、枳橙和沃尔卡默柠檬的 CAT 活性、枳和沃尔卡默柠檬叶片中 POD 活性均随着 NaCl 胁迫时间增加呈现显著减少趋势, 而枳、枳橙、沃尔卡默柠檬和硬枝香橙的 SOD 活性则均随着盐胁迫处理时间增加呈现出显著上升的变化。综合分析发现各砧木抗盐性差异与各氧化酶的活性变化关联不大, 推测沃尔卡默柠檬抗盐性较强可能与其根系有较强的排盐能力或者叶片有较强的离子区划能力相关。

关键词: 评价; 柑橘; 砧木; NaCl; 盐胁迫

中图分类号: S666

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2019)11-0001-06

由于干旱、肥水管理不当等原因, 致使土壤盐化越来越普遍, 盐胁迫已逐渐成为农业生产中一个重要的逆境因子^[1-2]。土壤盐碱化是农业生产的重大问题, 不仅破坏生态平衡^[3], 还影响到人类赖以生存的作物的发育, 对耐盐性植物的选育及研究是当代农业的迫切需要^[4]。

柑橘是一种盐敏感植物, 在柑橘产业发展过程中经常会遇到盐胁迫问题^[1]。我国江南沿海以及内陆少部分地方利用盐碱地发展柑橘^[5], 另外, 设施栽培柑橘也在发展, 省力化水肥管理一体化系统的应用, 都会因为肥水管理不合理, 导致根系周边区域出现盐化现象^[6], 影响柑橘生长发育和果实品质。柑橘生产主要是采用嫁接苗木, 而砧木对植物的耐盐性起关键性作用。前人研究中发现砧木耐盐性存在品种差异性, 其中酸橙、甜橙较耐盐^[7], 而北碚早花枳、莽山野柑为盐敏感性砧木^[8]。对维尔拉柠檬持续浇灌高浓度盐水, 发现柠檬树的耐盐性与其砧木品种有关^[9]; 在四川等西南地区盐碱地, 以资阳香橙为砧木的柑橘嫁接苗栽培性状表现良好, 其抗盐碱能力比枳砧的嫁接苗强^[10]; 而卡里佐枳橙在偏碱的土壤种植易出现缺铁症状^[11]。因此, 筛选抗盐砧木并开展相关研究非常重要。

沃尔卡默柠檬、硬枝香橙是新近通过资源调查收集到 2 个特色砧木, 宜昌橙虽是一个比较早的野生资源, 但是和沃尔卡默柠檬、硬枝香橙一样, 其抗盐性研究还未见相关报道。本研究以枳、枳橙为对照材料, 比较沃尔卡默柠檬、硬枝香橙和宜昌橙的抗盐性, 为其应用提供支持; 同时对抗盐性原因进行探讨, 以期

① 收稿日期: 2019-04-26

基金项目: 现代农业产业(柑橘)技术体系专项(CARS-27); 重庆市科学技术局社会事业与民生保障科技创新专项(cstc2016shms-ztxx80001)。

作者简介: 周心智(1963-), 女, 副研究员, 主要从事柑橘品种资源研究。

为进一步研究抗盐机制奠定基础。

1 材料与方法

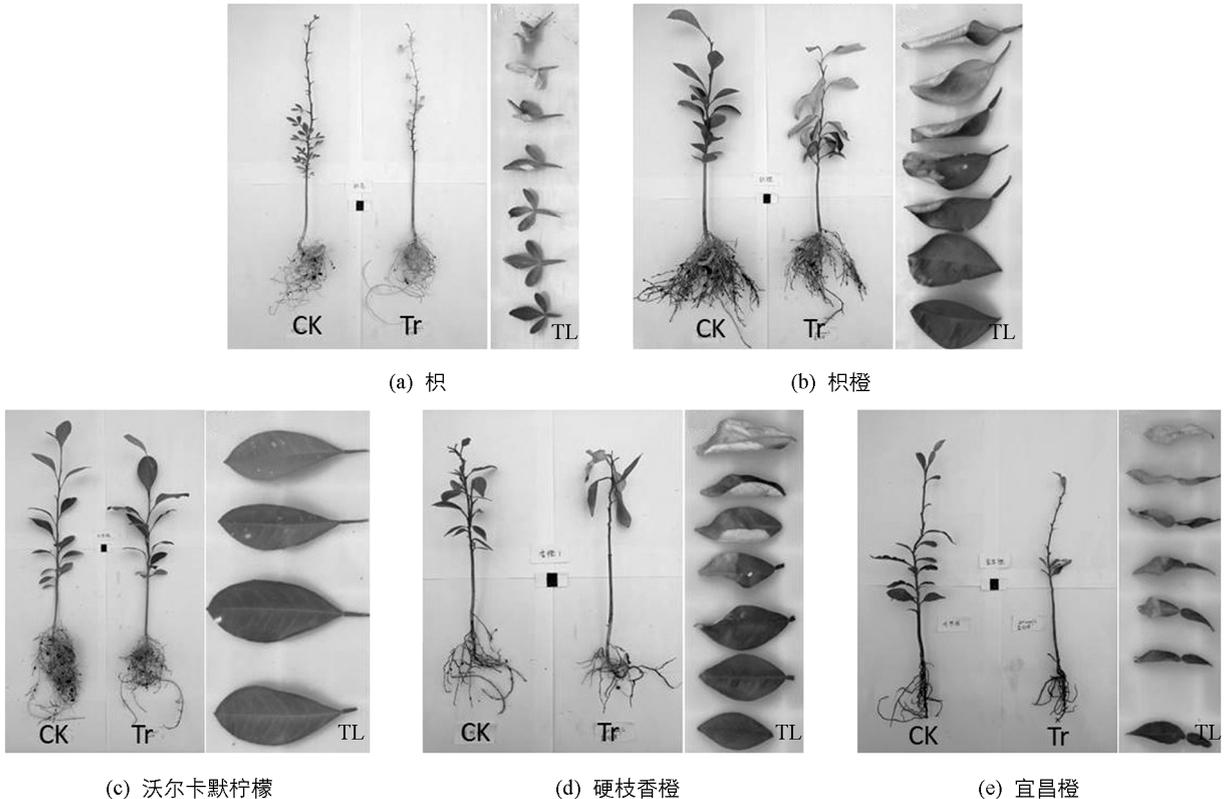
本研究以枳、枳橙、沃尔卡默柠檬、硬枝香橙、宜昌橙春季播种后萌发生长的 1 年生苗为材料, 在 2018 年 7 月下旬, 每个品种选取生长一致的植株移至塑料盆中, 每盆 20 棵, 每个品种 6 盆。基质为体积比, 土: 椰糠: 有机质=1: 1: 1。处理前每 3 d 浇水 2 L(每盆), 每 2 周浇 1 次霍格兰营养液(2 L)。2018 年 9 月 17 日开始, 其中 3 盆(处理的 3 个重复)每间隔 3 d 浇 200 mmol/L NaCl 溶液 2 L(每盆), 以不浇灌 NaCl 溶液的 3 盆为对照。在 NaCl 处理过程中, 每盆随机选 5 株, 每株选梢尖向下第 3 片绿色叶片用手持 SPAD-502 型叶绿素仪(日本 KONICA MINOLTA 公司生产)测定 SPAD 值, 每片叶选测 3 个点。每隔 7 d 采 1 次样(每盆选 3~4 棵苗), 共采 4 次样; 每盆所采样的叶片混合, 用液氮研磨后放到 -70 °C 超低温冰箱用于相关指标的测定。

叶片可溶性蛋白和脯氨酸质量分数分别采用考马斯亮蓝 G-250 染色法、酸性茚三酮比色法进行测定^[1]; 过氧化氢酶(CAT)、过氧化物歧化酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)酶活性分别采用相应试剂盒(南京建成试剂盒或苏州科铭生物试剂盒)进行测定。利用邓肯氏多重比较(SSR)进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 NaCl 处理对植株形态和叶片的影响

试验结果看出, 5 种砧木用 NaCl 胁迫处理 21 d 以后, 幼苗植株呈现出不同的形态变化。与对照相比较, 枳、枳橙、硬枝香橙和宜昌橙等幼苗部分叶片已经出现黄化, 而枳和宜昌橙的幼苗植株基本已经落叶。与其他 4 种砧木变化不一样的是, 沃尔卡默柠檬经过 21 d 的处理, 植株基本上看不出不良反应, 没有出现落叶现象, 叶片仍然是绿色, 没有发生明显的、肉眼可见的盐害症状(图 1)。



CK 表示对照植株, Tr 表示处理植株, TL 表示处理植株的叶片。

图 1 NaCl 处理下 5 种柑橘砧木的植株和叶片形态

2.2 NaCl 处理对叶绿素的影响

试验进一步比较各幼苗植株绿色叶片在 NaCl 胁迫处理过程中的叶绿素 SPAD 值. 结果发现, 随着 NaCl 处理时间延长, 枳叶片的 SPAD 值是持续显著减少的, 处理 0 d 时 SPAD 值是 64.8, 到处理后 21 d 时 SPAD 值为 40.4; 枳橙叶片的 SPAD 值在盐处理 14 d 前没有显著变化, 在盐处理 21 d 时的 SPAD 值是 52.9, 明显低于盐处理 0 d 的 SPAD 值; 沃尔卡默柠檬和硬枝香橙叶片中的 SPAD 值在整个处理过程中呈现上下波动变化, 但是 SPAD 值之间未达到非常明显的差异; 宜昌橙叶片中的 SPAD 值则在盐处理 7 d 时显著下降, 随后随着处理时间延长而 SPAD 值逐渐变小(表 1).

表 1 NaCl 胁迫对 5 种柑橘砧木叶片中叶绿素 SPAD 值的影响

处理时间/d	枳	枳橙	沃尔卡默柠檬	硬枝香橙	宜昌橙
0	64.8±4.95a	62.3±3.65a	51.4±7.62	52.2±5.35	71.5±5.12a
7	57.6±5.72ab	56.3±4.77ab	56.7±5.32	57.2±2.76	55.9±2.84b
14	49.5±8.18bc	59.16±4.46ab	59.1±3.19	59.6±4.02	54.7±5.26b
21	40.4±6.19c	52.9±3.92b	56.0±3.45	58.0±5.14	52.0±7.58b

注: 同列数值后不同小写字母表示处理间差异在 5% 水平有统计学意义, 下同.

2.3 NaCl 处理对叶片可溶性蛋白和脯氨酸的影响

试验测定了 NaCl 处理过程中 5 种柑橘砧木幼苗绿色叶片中可溶性蛋白、脯氨酸质量分数的变化, 发现 5 种砧木幼苗叶片中可溶性蛋白变化不大, 其质量分数为 1.39~1.70 mg/g(表 2). 其中枳叶片中可溶性蛋白质量分数在整个处理过程中变化不明显; 枳橙叶片中的可溶性蛋白质质量分数随着 NaCl 胁迫时间的增加而上下波动, 在处理 14 d 时质量分数最高, 为 1.50 mg/g; 而沃尔卡默柠檬和硬枝香橙叶片中的可溶性蛋白质质量分数随着处理时间增加而呈现上下波动, 最高值分别出现在处理 21 d 和 14 d, 为 1.60 mg/g 和 1.61 mg/g; 与枳一样, 宜昌橙叶片中可溶性蛋白质量分数在整个处理过程中变化不明显.

表 2 NaCl 胁迫对 5 种柑橘砧木叶片中可溶性蛋白质量分数的影响

mg/g

处理时间/d	枳	枳橙	沃尔卡默柠檬	硬枝香橙	宜昌橙
0	1.54±0.07a	1.44±0.08ab	1.48±0.02b	1.50±0.06b	1.65±0.08a
7	1.45±0.05a	1.46±0.07ab	1.51±0.08ab	1.50±0.02b	1.62±0.13a
14	1.55±0.05a	1.50±0.03a	1.46±0.03b	1.61±0.02a	1.70±0.07a
21	1.56±0.02a	1.39±0.04b	1.60±0.07a	1.59±0.02a	1.67±0.06a

5 种柑橘砧木幼苗叶片中的脯氨酸质量分数随 NaCl 处理时间增加的变化与可溶性蛋白的变化不同. 枳、枳橙和沃尔卡默柠檬叶片中的脯氨酸质量分数随着 NaCl 处理时间延长而显著增加; 硬枝香橙叶片中的脯氨酸质量分数则表现为先上升后下降的变化, 最高值出现在 NaCl 胁迫处理的第 14 d, 为 5.07 mg/g; 宜昌橙叶片中的脯氨酸质量分数则随着 NaCl 处理呈现上下波动, 最高值出现在 NaCl 处理 0 d, 为 7.42 mg/g, 最低值出现在 NaCl 处理第 7 d, 为 2.44 mg/g(表 3).

表 3 NaCl 胁迫对 5 种柑橘砧木叶片中脯氨酸质量分数的影响

mg/g

处理时间/d	枳	枳橙	沃尔卡默柠檬	硬枝香橙	宜昌橙
0	0.15±0.01c	0.08±0.00d	0.08±0.01c	2.29±0.09b	7.42±0.14a
7	0.35±0.03c	0.48±0.02c	0.11±0.02c	2.35±0.04b	2.44±0.11c
14	0.90±0.10b	1.38±0.18b	0.36±0.04b	5.07±0.33a	6.76±0.40b
21	1.39±0.11a	2.48±0.17a	0.91±0.09a	2.62±0.10b	3.47±0.61c

2.4 NaCl 处理对抗氧化酶活性变化的影响

NaCl 胁迫下幼苗叶中的 CAT, POD 和 SOD 酶活性变化在 5 种柑橘砧木中存在差异. 枳、枳橙和沃尔

卡默柠檬的 CAT 在 NaCl 胁迫下的变化趋势基本一致, 即随着 NaCl 胁迫时间的增加, CAT 活性显著减少, 至 NaCl 处理第 21 d 时, CAT 活性又显著增加. 盐胁迫下, 硬枝香橙和宜昌橙叶片中 CAT 活性则呈现非常大的波动(表 4).

枳和沃尔卡默柠檬叶片中 POD 活性均随着盐胁迫时间增加而显著减少, 而枳橙中的 POD 活性随盐胁迫时间增加呈现出上下波动, 但是没有出现显著差异. 与枳橙表现不一样的是, 硬枝香橙中的 POD 活性是上下显著波动, 宜昌橙在盐处理 0 d 时的 POD 活性比较低, 为 0.4 U/g, 随着盐胁迫处理时间增加, POD 活性在处理 21 d 时显著上升, 达到 0.9 U/g(表 5).

盐胁迫处理下, SOD 活性在枳、枳橙、沃尔卡默柠檬和硬枝香橙叶片中的变化趋势相似, 即随着盐胁迫处理时间延长, SOD 活性显著增加. 与前面 4 个砧木变化不一样的是, 宜昌橙叶片中的 SOD 活性在盐胁迫处理 7 d 迅速显著增加, 到盐处理 14 d 时达到最高值, 为 327.3 U/g, 随后在盐胁迫 21 d 的时候迅速显著减少, 为 69.9 U/g(表 6).

表 4 NaCl 胁迫对 5 种柑橘砧木叶片中过氧化氢酶(CAT)活性的影响

U/g

处理时间/d	枳	枳橙	沃尔卡默柠檬	硬枝香橙	宜昌橙
0	166.5±18.9a	234.5±34.2a	161.0±22.2b	472.6±41.3a	
7	92.7±16.9b	210.0±20.2a	181.5±2.2a	175.7±31.1c	120.2±22.2c
14	31.9±9.1d	79.7±59.4b	129.2±10.6d	419.7±2.0a	520.0±43.3a
21	55.4±6.1c	90.3±2.2b	149.2±10.0c	256.5±11.7b	264.7±76.6b

表 5 NaCl 胁迫对 5 种柑橘砧木叶片中过氧化物歧化酶(POD)活性的影响

U/g

处理后时间/d	枳	枳橙	沃尔卡默柠檬	硬枝香橙	宜昌橙
0	1.8±0.4a	1.7±0.4	1.4±0.2a	1.3±0.1b	0.4±0.1b
7	0.3±0.2b	1.4±0.2	1.1±0.1b	1.6±0.1a	0.2±0.1c
14	0.1±0.0c	1.7±0.2	1.0±0.1bc	1.3±0.1b	0.2±0.1c
21	0.2±0.2bc	1.6±0.1	0.9±0.1c	1.6±0.2a	0.9±0.1a

表 6 NaCl 胁迫对 5 种柑橘砧木叶片中超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

U/g

处理后时间/d	枳	枳橙	沃尔卡默柠檬	硬枝香橙	宜昌橙
0	80.6±8.0b	80.0±6.6c	73.9±10.1c	64.5±10.2c	2.9±1.8c
7	63.5±9.8c	79.7±7.1c	81.9±7.0bc	72.0±16.4c	307.0±32.1a
14	156.8±24.7a	104.2±4.4b	114.7±23.5ab	141.2±20.4a	327.3±10.9a
21	148.9±17.2a	145.8±11.8a	140.5±8.5a	107.5±17.9b	69.9±3.8b

3 讨论与结论

土壤盐化已成为全球农业一个主要问题, 筛选抗盐砧木或品种对果树产业发展具有重要意义. 张笑颜等^[12]对桃部分砧木的耐盐性进行了评价, 发现蒙古扁桃的抗盐性最强, 为盐碱地桃种植提供了一个潜在砧木. 盐害可引起植物生理干旱, 导致植物叶片生长不良, 出现叶尖枯黄、叶面斑黄等盐害症状, 抑制根的生长. 孙方骏等^[13]对木瓜的研究中发现, 随着 NaCl 浓度的升高叶片由鲜绿至暗黄变化, 侧根数量下降且易折断, 直至子叶发黄植株不生长. 柑橘产业近年来也逐步受到盐胁迫威胁^[1, 6], 朱世平等^[8]评价了 15 种柑橘砧木种子在盐胁迫下的出苗率情况, 依据盐胁迫下的出苗率, 认为扁平橘抗盐性最强, 印度酸橘较耐盐, 而枳橙等耐盐性次之, 莽山野柑则对盐胁迫非常敏感. 本研究以 2 种常见砧木和 3 种地方砧木资源为材料,

对其幼苗植株的抗盐性进行了评价. 从盐胁迫处理的植株、叶片外观和 SPAD 值的变化来看, 沃尔卡默柠檬的植株基本正常, 根系数量没有明显变化, 叶片仍然正常, 而且叶片 SPAD 值没有发生显著变化, 表现出较强的抗盐特性; 枳橙叶片黄化较晚, 在花后 21 d 叶片还没有真正脱落, 叶片 SPAD 值变化也不显著, 抗盐性次之, 该结论与朱世平等^[8]的研究结果一致. 本试验同时发现硬枝香橙在盐胁迫下的表现与枳橙一样, 同样表现出较抗盐的特征; 从幼苗植株叶片脱落情况和 SPAD 值变化来看, 枳和宜昌橙对盐胁迫敏感. 本试验结果中枳对盐胁迫敏感性与朱世平等^[8]的研究结果基本一致.

在植株还能行使正常生理功能的情况下, 逆境会促进叶片中可溶性蛋白和脯氨酸的增加, 同时氧化酶的活性也会增加, 通过增强渗透调控和去自由基的氧化能力而提高抗逆性^[2]. 本研究综合比较了 5 种砧木在盐胁迫过程中绿色叶片可溶性蛋白和脯氨酸质量分数以及 3 种氧化酶活性的变化. 结果表明, 枳、硬枝香橙、宜昌橙的叶片可溶性蛋白质量分数和枳、枳橙、沃尔卡默柠檬的脯氨酸质量分数变化趋势与杨惠栋^[14]的研究结果一致; 与其他砧木相比较, 发现沃尔卡默柠檬叶片的脯氨酸质量分数变化较慢、幅度较小, 说明叶片受到盐胁迫的时间较晚、速度较慢, 即盐分从根系运输到叶片的时间晚, 因此推测沃尔卡默柠檬的抗盐性较强可能与其根系排盐能力有关系^[1-2], 也可能与沃尔卡默柠檬叶片较强的离子区划能力相关^[15]; 在盐胁迫条件下, 植物细胞内 Na^+ 大量积累造成膜蛋白和膜脂损失, 而抗氧化酶系统起保护作用, 可减少盐分对细胞膜的破坏^[16]. 本研究中, 5 种柑橘砧木的 CAT, POD, SOD 抗氧化酶活性变化存在差异, 其中 SOD 抗氧化酶的活性随盐分的积累而增加, 而 CAT, POD 抗氧化酶活性在硬枝香橙中呈显著上下波动. 同一种酶在不同砧木中变化不同, 这与在黑果枸杞^[17]、海棠砧木^[18]等盐胁迫研究中结果一致, 也说明盐胁迫对高等植物抗氧化酶活性影响差异可能与品种相关. 本研究中枳对盐敏感可能与其叶片中 CAT 和 POD 抗氧化酶的活性迅速下降有关系, 或与叶片离子区划能力弱相关; 而沃尔卡默柠檬表现的强抗盐性与氧化酶活性变化关系不大, 可能与其根系强排盐能力或叶片较强的离子区划能力相关, 均有待后续进一步的研究.

参考文献:

- [1] STOREY R, WALKER R. Citrus and Salinity [J]. *Scientia Horticulturae*, 1998, 78(1-4): 39-81.
- [2] 吴运荣, 林宏伟, 莫肖蓉. 植物抗盐分子机制及作物遗传改良耐盐性的研究进展 [J]. *植物生理学报*, 2014, 50(11): 1621-1629.
- [3] 张 杰, 陈立新, 乔 璐, 等. 大庆市不同土壤类型盐碱化特征及评价 [J]. *东北林业大学学报*, 2010, 38(7): 119-122.
- [4] 陈彦云, 李紫辰, 曹君迈, 等. 马铃薯脱毒苗对 NaCl 胁迫的响应及耐盐性评价 [J]. *西南农业学报*, 2018, 31(10): 2052-2059.
- [5] 罗小友, 梁云明, 陈菊莲, 等. 齐兴复肥在海涂盐碱地柑橘上的应用效果 [J]. *浙江柑橘*, 2002, 19(3): 21-22.
- [6] 钱皆兵, 郭延平, 陈子敏, 等. 柑橘设施栽培对土壤理化性质和果实品质的影响 [J]. *浙江农业科学*, 2007, 48(1): 28-29, 34.
- [7] 陈竹生, 聂华堂, 计 玉, 等. 柑桔种质的耐盐性鉴定 [J]. *园艺学报*, 1992, 19(4): 289-295.
- [8] 朱世平, 陈 娇, 刘小丰, 等. 15 种柑橘砧木出苗期耐盐碱性评价 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2014, 36(6): 47-52.
- [9] CERDA A, NIEVES M, GUILLEN M G. Salt Tolerance of Lemon Trees as Affected by Rootstock [J]. *Irrigation Science*, 1990, 11(4): 245-249. DOI: 10. 1007/bf00190540.
- [10] 刘建军, 陈克玲, 胡 强, 等. 特色地方柑橘资源“资阳香橙”的初步研究 [J]. *西南农业学报*, 2008, 21(6): 1658-1660.
- [11] 彭良志, 江才伦, 曹 立, 等. 土壤 pH 值对卡里佐枳橙砧甜橙缺铁程度的影响 [J]. *中国南方果树*, 2005, 34(5): 11-12.
- [12] 张笑颜, 朱立新, 贾克功. 5 种核果类果树的耐盐性与抗盐性分析 [J]. *北京农学院学报*, 2008, 23(2): 19-23.
- [13] 孙方玟, 尹增芳. 盐胁迫对木瓜种子萌发和幼苗生长的影响 [J]. *林业科技开发*, 2008, 22(1): 33-36.

- [14] 杨惠栋. 枳和资阳香橙等 4 种柑橘砧木的耐盐耐硼性差异及其生理研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2017.
- [15] 马丽清, 韩振海, 周二峰, 等. 盐胁迫下珠眉海棠与山定子叶片 Na^+ 区域化的研究 [J]. 西北植物学报, 2006, 26(7): 1378-1383.
- [16] 毛桂莲, 许 兴, 徐兆桢. 植物耐盐生理生化研究进展 [J]. 中国生态农业学报, 2004, 12(1): 43-46.
- [17] 张荣梅, 马彦军. NaCl 胁迫对黑果枸杞叶片生理指标的影响 [J]. 甘肃农业大学学报, 2017, 52(4): 110-117.
- [18] 杨文翔. 盐胁迫对三个海棠砧木品种生理及生长的影响 [D]. 南京: 南京林业大学, 2011.

Evaluation of Salinity Tolerance in Five Citrus Rootstock Seedlings

ZHOU Xin-zhi, ZHANG Yun-gui

Institute of Pomology, Chongqing Academy of Agricultural Sciences/Modern Agriculture (Citrus)

Industrial Technology System Jiangjin Citrus Comprehensive Experimental Station, Jiangjin Chongqing 401329, China

Abstract: This research was conducted to compare salt-tolerance of five citrus rootstock seedlings: trifoliolate, Carrizo Citrange (orange/trifoliolate hybrid), Volkamer (lemon), Yingzhi orange and Yichang orange. After exposing to salinity for 21 days, Volkamer plants and leaves were normal without visual injury and change in the chlorophyll meter (SPAD) reading; however, Yichang orange and trifoliolate plants were extremely sensitive to salinity; and Carrizo Citrange and Yingzhi orange plants were in between. Salinity stress treatment resulted in no discernible change in insoluble protein content and considerable change in proline content of the leaf samples, and the increase in proline content was statistically significant in the leaves of trifoliolate, Carrizo Citrange and Volkamer. With the extension of the duration of salt stress, catalase (CAD) activity in the leaves of trifoliolate, Carrizo Citrange and Volkamer and peroxidase (POD) activity in the leaves of trifoliolate and Volkamer showed an obvious decreasing trend, while superoxide dismutase (SOD) activity exhibited an obvious increasing trend in trifoliolate, Carrizo Citrange, Volkamer and Yingzhi samples. Salt-tolerance of the rootstocks studied did not seem closely associated with the activity of their oxidation enzymes. The relatively high salt stress of Volkamer was speculated to be associated with the great salt removal capacity of its root system or/and with its ability to limit the accumulation of sodium and chlorine ions in the leaves.

Key words: evaluation; citrus; rootstock; NaCl; salt stress

责任编辑 王新娟