

胡杨抗盐性的生理生化基础

*Physiological and Biochemical Mechanisms of
Populus euphratica in Salt Resistance*

陈少良



高等
教育
出版
社
HIGHER EDUCATION PRESS

作者简介



陈少良，曾用名陈绍光，河北霸州市人，1969年6月生，回族。1992年7月毕业于河北林学院，同年9月考入北京林业大学攻读硕士学位。1995年3月直博，1997年6月获博士学位。同年12月公派德国哥廷根大学森林植物研究所作博士后。1998年10月底回国，1999年7月晋升副教授。自2001年7月任北京林业大学生物科学与技术学院教授，2002年7月被聘为博士生导师。作为研究骨干，先后参加了中德、中德以色列国际合作课题、国家自然科学基金面上项目和重点项目、高等学校博士学科点专项科研基金项目的研究工作。现主持国家自然科学基金面上项目、高等学校全国优秀博士学位论文作者专项资金项目、教育部“高等学校优秀青年教师教学科研奖励计划”。

主要从事树木抗旱、耐盐生理生化基础的研究工作。在树木抗旱研究方面，研究了水分胁迫对不同种类杨树生长、光合作用、水分状况、渗透调节、多胺和乙烯生物合成等各方面的影响；从根冠通讯的角度揭示了不同耐旱性杨树适应水分逆境的机制；提出并初步证明了根冠通讯复合化学信号的假说。博士学位论文《杨树种间耐旱性差异的生理生化基础研究》被评为2001年全国优秀博士论文。在树木耐盐机制方面，主要以在我国西北干旱盐碱的荒漠和戈壁地带能形成森林的唯一高大乔木树种胡杨为研究对象，探讨树木的抗盐机制。研究的重点涉及盐胁迫下杨树的根冠通讯、盐离子吸收、转运与分配、离子区隔化、水分运输、渗透调节、营养状况等各个方面。在所研究领域取得很大进展：发现抗盐的胡杨能迅速感知土壤的盐胁迫并合成化学信号用于根

冠通讯；并且发现耐盐的胡杨除了能感知渗透胁迫，也能响应离子胁迫；通过实验证实胡杨在盐生境下具有较强的离子选择吸收能力；利用X射线微区分析技术发现胡杨细胞的液泡不但区隔盐离子的能力强，而且具有选择性；在国内首次开发了离子对液相色谱法测定甜菜碱的方法，并研究了甜菜碱、糖等渗透调节物质在树木抗盐性中的作用。在德国读博士后期间，还深入揭示了吸水剂提高胡杨抗盐性的作用机制。以第一作者在 Tree Physiology、Canadian Journal of Forest Research、Trees: Structure and Function、Forest Ecology and Management、Journal of Plant Growth Regulation 等 5 种国际刊物发表论文 7 篇，在国内《植物学报》、《植物学通报》等核心刊物上发表论文 20 余篇。作者获 2001 年全国优秀博士学位论文奖（教育部、国务院学位委员会）和 2002 年教育部“高校青年教师奖”。作为主要成员，作者获得 2002 年中国林学会“梁希”奖和 2002 年国家科技进步二等奖。

前 言

胡杨是非常有价值的造林绿化树种。在我国西北干旱盐碱的荒漠和戈壁地带,胡杨是惟一能够形成森林的高大乔木树种。在固定沙丘、农田林网建设方面胡杨更是具有不可替代的作用。正是认识到胡杨在维护荒漠地区生态平衡方面的重要性,国际杨树委员会 1984 年在渥太华召开的第 17 届会议上就明确提出,要保护胡杨的基因资源。然而当时人们对胡杨的研究工作极少,甚至都不了解胡杨的资源情况。为了让世人尽快地了解胡杨,我国著名林业专家、时任国际杨树委员会副主席的王世绩先生牵头于 1995 年出版了《胡杨林》。该书介绍了胡杨林的天然分布范围以及胡杨在分类学中的地位,胡杨的生理生态特性,天然林种群结构、类型及演替规律,育苗和造林方法,遗传改良现状,病虫害管理,木材性质以及综合利用等方面的内容。该著作的出版,确实丰富了人们对胡杨这一珍稀物种的认识。

胡杨具有很强的抗盐性,然而其潜在的应用价值还远没有得到开发利用,主要原因就在于人们对它抗盐的生理基础知之甚少。造成这种现状的原因是多方面的,其中,胡杨主要分布在发展中国家经济欠发达地区,再加上胡杨扦插繁殖困难,从而限制了对它的研究。

为深入揭示胡杨抗盐机制,指导林木的抗性育种工作,在国际合作科研项目的资助下(德国—以色列农业研究协定(GIARA)研究项目“提高中国速生树种在逆境下生产力”),包括申请人(作者)在内的课题组从 1993 年就开始对胡杨抗盐机制进行系统研究,至今已经有十余年

的历史。研究的内容涉及植物抗盐机制的各个层面。通过这些年来不懈的努力，使胡杨抗盐生理机制各个方面研究都取得了很大进展。近期已经报道的有关结果，在国内以及国际学术界均产生了一定影响。这些都为林木抗逆良种的选育工作奠定了坚实的基础。

特此,作者将十多年来的工作进行回顾和总结,对有关方面的工作加以介绍,和国内同行进行交流,以使胡杨抗盐机制的研究更加深入。作者真诚希望从事相关研究的同仁们为本书提出宝贵意见,以便推动我国这项事业的进一步发展。

2003年于北京

植物学报

植物学报·双季刊·增刊·章5兼

增刊·增刊·一

增刊·增刊·二

增刊·增刊·三

目 录

第1章 不同种类杨树的抗盐性差异	1
1 材料与方法	1
1.1 植物材料	1
1.1.1 胡杨与杂种胡杨	1
1.1.2 胡杨与 I-214 杨和群众杨	1
1.1.3 胡杨与毛白杨	2
1.2 方法	3
1.2.1 盐处理	3
1.2.1.1 胡杨与杂种胡杨	3
1.2.1.2 胡杨与 I-214 杨和群众杨	3
1.2.1.3 胡杨与毛白杨	3
1.2.2 土壤中盐分测定	4
1.2.3 生长测定	4
2 实验结果	5
2.1 NaCl 对生长的影响	5
2.1.1 胡杨与 I-214 杨和群众杨	5
2.1.2 胡杨与毛白杨	6
2.2 NaCl 对整株叶片数及叶面积的影响	6
2.2.1 胡杨与杂种胡杨	6
2.2.2 胡杨与 I-214 杨和群众杨	8
2.2.3 胡杨与毛白杨	8
3 讨论	9

参考文献	10
第2章 盐离子吸收、转运与分配	11
一、盐离子吸收	11
1 材料与方法	11
1.1 材料	11
1.2 方法	11
1.2.1 盐处理	11
1.2.2 根、茎、叶样品采样	12
1.2.2.1 采样时间	12
1.2.2.2 采样方法	12
1.2.3 组织中盐离子测定	12
2 实验结果	13
2.1 胡杨与杂种胡杨	13
2.2 胡杨与 I-214 杨和群众杨	14
2.3 胡杨与毛白杨	14
3 讨论	17
二、盐离子转运	19
1 材料与方法	19
1.1 材料	19
1.1.1 胡杨与杂种胡杨	19
1.1.2 胡杨与群众杨	19
1.1.3 胡杨与毛白杨	19
1.2 方法	19
1.2.1 盐处理	19
1.2.1.1 胡杨与杂种胡杨	19
1.2.1.2 胡杨与群众杨	19
1.2.1.3 胡杨与毛白杨	20
1.2.2 木质部汁液采样	20
1.2.2.1 茎木质部汁液采样	20
1.2.2.1.1 胡杨与杂种胡杨	20
1.2.2.1.2 胡杨与群众杨	20
1.2.2.2 根木质部汁液采样	20
1.2.3 木质部汁液中盐离子测定	20

1.2.4 组织中盐离子测定	20
1.2.5 根系吸收和转运离子速率的计算	21
1.2.6 苗木蒸腾量测定	21
1.2.7 木质部蒸腾流中离子浓度的计算	21
2 实验结果	21
2.1 茎木质部汁液中盐离子的浓度变化	21
2.1.1 胡杨与杂种胡杨	21
2.1.2 胡杨与群众杨	22
2.1.2.1 茎木质部汁液中盐离子浓度变化	22
2.1.2.2 根木质部汁液中盐离子浓度变化	24
2.2 根系对盐离子的吸收与运输	24
3 讨论	26
三、盐离子分配	28
1 材料与方法	28
1.1 材料	28
1.2 方法	28
1.2.1 盐处理	28
1.2.2 根、茎、叶样品采样	28
1.2.3 组织中盐离子测定	28
2 实验结果	29
2.1 对照苗木	29
2.2 盐处理苗木	29
3 讨论	30
参考文献	31
第3章 根冠盐分运输与水分运输	33
1 材料与方法	34
1.1 材料	34
1.2 方法	34
1.2.1 实验处理	34
1.2.2 整株苗木总叶面积的变化	34
1.2.3 苗木蒸腾量和叶片蒸腾速率	35
1.2.4 采样	35
1.2.5 组织中盐离子测定	35

1.2.6 木质部蒸腾流中盐离子浓度的计算	35
第2章 实验结果	35
2.1 整株苗木的耗水量	35
2.2 苗木叶片的蒸腾速率	37
2.3 苗木地上部组织中盐离子含量变化	38
2.4 木质部蒸腾流中盐离子浓度变化	39
3 讨论	41
参考文献	43
第4章 盐离子区隔化与盐分转运	44
1 材料与方法	45
1.1 材料	45
1.2 方法	45
1.2.1 盐处理	45
1.2.2 细胞中 Na^+ 、 Cl^- 含量测定	45
1.2.2.1 胡杨与 I-214 杨和群众杨	45
1.2.2.2 胡杨与毛白杨	46
2 实验结果	46
2.1 胡杨与 I-214 杨和群众杨	46
2.1.1 盐处理 4 天(土壤溶液中 NaCl 浓度为 131 mmol/L)	46
2.1.2 盐处理 30 天(土壤溶液中 NaCl 浓度达到 306 mmol/L)	47
2.2 胡杨和毛白杨	48
3 讨论	49
参考文献	51
第5章 营养元素的吸收与转运	52
一、营养元素的选择性吸收	53
1 材料和方法	53
1.1 材料	53
1.2 方法	53
1.2.1 盐处理	53
1.2.2 采样与测定	53
1.2.2.1 根、茎、叶组织采样与离子含量测定	53
1.2.2.2 细胞中离子含量测定	53
2 实验结果	54

2.1 组织中营养元素的变化	54
2.1.1 胡杨与杂种胡杨	54
2.1.1.1 组织营养元素浓度的变化	54
2.1.1.2 组织中 Na^+/K^+ 、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}$ 的变化	55
2.1.2 胡杨与 I-214 杨和群众杨	58
2.1.2.1 组织中营养元素浓度的变化	58
2.1.2.2 组织中 Na^+/K^+ 、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}$ 的变化	59
2.1.3 胡杨与毛白杨	59
2.1.3.1 组织营养元素浓度的变化	59
2.1.3.2 组织中 Na^+/K^+ 、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}$ 的变化	60
2.2 根细胞中营养元素的变化	61
2.2.1 根细胞中营养元素浓度的变化	61
2.2.2 根细胞中 Na^+/K^+ 、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}$ 的变化	62
3 讨论	63
3.1 组织和细胞中营养元素水平的变化	63
3.2 营养元素的选择性吸收	65
二、营养元素的转运	66
1 材料与方法	66
1.1 材料	66
1.2 方法	66
1.2.1 盐处理	66
1.2.2 木质部汁液采样与测定	66
2 实验结果	67
木质部汁液中营养元素浓度及 Na^+/K^+ 、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}$ 的变化	67
2.1 胡杨与杂种胡杨	67
2.2 胡杨与群众杨	67
3 讨论	71
参考文献	72
第6章 甜菜碱与抗盐性	74
一、甜菜碱的测定方法（反向 HPLC 离子对色谱法）	74
1 材料与方法	75
1.1 材料	75

1.1.1 胡杨悬浮细胞	75
1.1.2 苗木	75
1.2 方法	75
1.2.1 甜菜碱的提取	75
1.2.2 甜菜碱的纯化	76
1.2.3 液相色谱测定条件	76
1.2.4 甜菜碱的鉴定及定量	76
2 实验结果	76
2.1 检测波长的选择	76
2.2 标准曲线	76
2.3 样品色谱图谱	77
2.4 无离子对试剂对分离效果的影响	77
2.5 流速对分离效果的影响	77
2.6 两种不同纯化方法对甜菜碱回收率的影响	78
2.7 树木组织和细胞中甜菜碱的含量	80
3 讨论	80
二、甜菜碱与抗盐性	81
1 材料与方法	82
1.1 材料	82
1.2 方法	82
1.2.1 盐处理	82
1.2.2 土壤中盐分测定	83
1.2.3 甜菜碱的测定	83
1.2.4 还原糖、水溶性糖和蔗糖测定	83
2 实验结果	83
2.1 甜菜碱含量的动态变化	83
2.2 还原糖、水溶性糖和蔗糖含量的动态变化	84
3 讨论	85
参考文献	88
第7章 根冠通讯与抗盐性	92
一、渗透胁迫和离子胁迫与盐胁迫信号的产生	93
1 材料与方法	93
1.1 材料	93

1.1.1 胡杨与杂种胡杨	93
1.1.2 胡杨与群众杨	93
1.2 方法	93
1.2.1 实验处理	93
1.2.1.1 胡杨与杂种胡杨	93
1.2.1.2 胡杨和群众杨(10 L)	93
1.2.1.3 胡杨和群众杨(5 L)	94
1.2.2 木质部汁液中ABA测定	94
2 实验结果	95
2.1 长期盐胁迫下木质部汁液ABA浓度的变化	95
2.2 渗透胁迫和离子胁迫与根系胁迫信号的产生	96
2.2.1 叶片气体交换对渗透胁迫和盐胁迫的反应	96
2.2.2 渗透胁迫和盐胁迫下木质部汁液ABA浓度的变化	96
2.3 特殊离子效应与根系盐胁迫信号的产生	96
2.3.1 叶片气体交换对于盐胁迫及根系加压的反应	96
2.3.2 盐胁迫及根系加压处理下根木质部汁液ABA浓度的变化	98
3 讨论	100
3.1 渗透胁迫和离子胁迫与根系胁迫信号的产生	100
3.2 根系盐胁迫信号与抗盐性	102
二、特殊离子效应与盐胁迫信号的产生	103
1 材料与方法	103
1.1 材料	103
1.2 方法	104
1.2.1 实验处理	104
1.2.2 木质部汁液中ABA测定	104
1.2.3 木质部汁液中盐离子测定	104
2 实验结果	104
2.1 叶片气体交换对钠盐胁迫和氯盐胁迫的反应	104
2.2 茎木质部汁液ABA浓度的变化	105
2.3 茎木质部汁液中 Na^+ 、 Cl^- 离子的浓度变化	105
2.3.1 茎木质部汁液中 Na^+ 离子浓度变化($[\text{Na}^+]_{\text{xylem}}$)	105
2.3.2 茎木质部汁液中 Cl^- 离子浓度变化($[\text{Cl}^-]_{\text{xylem}}$)	107

3 讨论	107
参考文献	109
第8章 悬浮细胞与整株植物的抗盐性	113
1 材料与方法	114
1.1 材料	114
1.2 方法	114
1.2.1 盐处理	114
1.2.2 细胞内离子浓度测定	114
2 实验结果	114
2.1 杨树悬浮细胞细胞壁中离子含量的变化	114
2.2 杨树悬浮细胞细胞质中离子含量的变化	115
2.3 杨树悬浮细胞液泡中的离子含量的变化	116
3 结论与讨论	117
3.1 细胞的抗盐机制	117
3.1.1 细胞的排盐性	117
3.1.2 细胞中的离子区隔化	119
3.1.3 细胞对营养元素的选择性吸收	119
3.1.4 细胞的渗透调节	119
3.2 细胞与整株植物抗盐性的相关性	120
参考文献	121
第9章 吸水剂与胡杨抗盐性	123
1 材料与方法	124
1.1 材料	124
1.2 采样	124
1.3 组织中离子浓度测定	125
1.4 土壤分析	125
1.4.1 土壤水分以及吸水剂体积测定	125
1.4.2 土壤 pH 与离子浓度测定	125
1.5 细胞中盐离子测定	126
2 试验结果	126
2.1 生物量	126
2.2 根长与根表面积	127
2.3 吸水剂对基质含水量、pH 以及离子浓度的影响	128

2.4 组织中的离子浓度	129
2.5 细胞中离子的分布	129
3 讨论	133
3.1 吸水剂对胡杨生长的影响	133
3.2 吸水剂对组织中盐离子水平的影响	133
3.3 吸水剂对细胞中盐离子水平的影响	134
3.4 吸水剂对组织和细胞中 Ca^{2+} 的影响	135
4 结论	136
参考文献	136
专著相关论文	139
后记	141

第1章

不同种类杨树的抗盐性差异

实。苗龄至白手帕时的生长情况如表1-1所示。

由表1-1可知，不同种类杨树在苗龄1年时，生长情况存在明显差异。胡杨苗高30 cm，而群众杨苗高仅20 cm；胡杨苗茎粗0.5 cm，而群众杨苗仅0.3 cm。这说明不同种类杨树在生长初期存在明显差异。

杨树是中国北方最重要的造林绿化树种之一。我们已经发现不同种类杨树间的抗旱性差别很大^[1~3]，然而对杨树的抗盐性还没有系统研究。通过近些年的工作，我们发现不同种类的杨树在抗盐性上同样存在明显差别，下面将就此进行详细介绍。

1 材料与方法

1.1 植物材料

1.1.1 胡杨与杂种胡杨

4月初，将取自新疆的胡杨(*P. euphratica*)和杂种胡杨(*P. talassica* Kom × (*P. euphratica* + *Salix alba* L.))二年生苗栽于10 L塑料桶中。土壤取自北京林业大学苗圃。在北京林业大学森林生物实验中心的温室内培养苗木。培养期间，每周浇水2~3次以保持土壤湿度，并且每两周浇一次Hoagland完全营养液(每桶1.0 L)。培养3个月后，苗木高为60~80 cm，单株叶量50~70片。选择生长一致的苗木进行实验。

1.1.2 胡杨与I-214杨和群众杨

4月中旬，分别将群众杨(*Populus ‘popularis 35-44’*), *P. popu-*

laris)、I-214 杨(*P. × euramericana* cv. I-214, *P. cv. Italica*)硬枝插穗(长 20 cm)和取自新疆的胡杨(*P. euphratica*)二年实生苗栽于 2 L 塑料桶中。每种杨树栽植 30 桶。苗木的培养基质为人造培养土(Einheitserde, Germany)。苗木在德国哥廷根大学森林植物研究所温室中培养, 培养期间定期浇水以保持土壤湿度, 并每两周浇一次 Hoagland 完全营养液(每桶 0.2 L)。培养 2 个月后进行实验(苗木高为 50~70 cm)。

1.1.3 胡杨与毛白杨

实验中使用的是经充分锻炼后木质化的胡杨和毛白杨组培苗。实验在德国哥廷根大学森林植物研究所进行。具体操作步骤如下:

胡杨: 在 1 月份, 将取自新疆的胡杨(*P. euphratica*)二年实生苗放入冷室中, 室温控制在 4~7 ℃(以打破休眠)。冷处理一周后, 用 50×10^{-6} 的生长素处理根系 24 h, 最后, 再将苗木栽植在 2 L 塑料桶中, 放入温室中培养。苗木的培养基质为培养土(Einheitserde)。培养期间定期浇水以保持土壤湿度。待苗木长出新枝条后, 采下嫩枝, 去除叶片。用 1.2% 次氯酸钠对嫩枝表面消毒 20 min, 之后, 再用灭菌蒸馏水冲洗 6 遍。将枝条剪成 1.0~1.5 cm 小段, 每段保证有一叶芽。将小的枝段植入 MS 培养基。培养基中 BA 和 NAA 的质量浓度分别为 0.10 mg/L 和 0.01 mg/L, pH 调至 5.8。

在组织培养期间, 组培室温度控制在 25 ℃, 光照为 16 h。一个月后, 将长 1.0~1.5 cm 的小芽转移至生根培养基。生根培养基组分为: SH 培养基的大量元素 + MS 培养基的微量元素。此培养基中 NAA 的质量浓度为 0.05 mg/L。在 4 月份, 将生根小苗移出培养瓶, 小心去除沾在根上的培养基, 将小苗栽植在 2 L 塑料桶中, 培养基质为灭过菌的培养土(Einheitserde)。塑料桶上套一塑料袋, 在温室中进行锻炼。炼苗期间定期浇水以保持土壤湿度。炼苗一个月后, 去除塑料袋。定期浇水以保持土壤湿度, 并每两周浇一次 Hoagland 完全营养液(每桶 0.2 L)。培养 3 个月后, 选择生长一致的苗木进行实验。

毛白杨: 将以色列希伯来大学赠送的生根毛白杨组培苗进行锻炼。炼苗步骤与上述胡杨相同。

1.2 方法

1.2.1 盐处理

1.2.1.1 胡杨与杂种胡杨

用 200 mmol/L 的 NaCl 溶液处理胡杨与杂种胡杨苗木, 每周浇一次盐溶液, 每次每桶 1.0 L, 盐处理 28 天。未浇盐溶液的苗木作为对照处理。实验期间每周浇一次 Hoagland 完全营养液(每桶 1L)。盐处理期间土壤 NaCl 浓度的变化如图 1-1 所示。

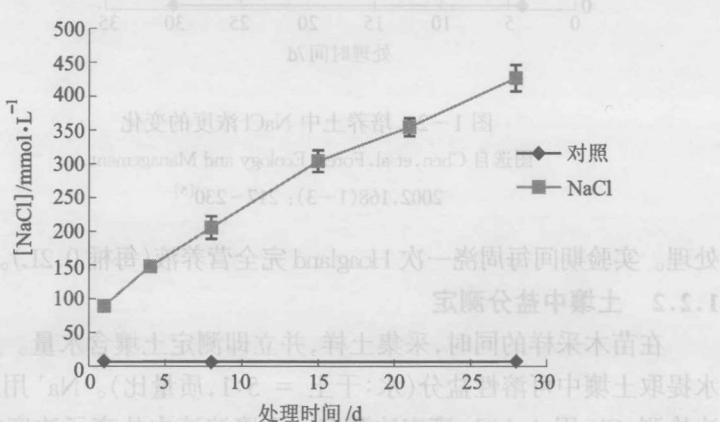


图 1-1 土壤 NaCl 浓度的变化

图选自 Chen, et al. Trees, 2001, 15(3): 186~194^[4]

1.2.1.2 胡杨与 I-214 杨和群众杨

用 300 mmol/L 的 NaCl 溶液处理胡杨与 I-214 杨和群众杨苗木, 每周浇一次盐溶液, 每次每桶 0.3 L, 盐处理 30 天。未浇盐溶液的苗木作为对照处理, 实验期间每周浇一次 Hoagland 完全营养液(每桶 0.2L)。盐处理期间土壤 NaCl 浓度的变化如图 1-2 所示。

1.2.1.3 胡杨与毛白杨

对经充分锻炼木质化的胡杨和毛白杨组培苗进行 20 天盐处理。在盐处理的第 1 天, 用 1.0 L 100 mmol/L 的 NaCl 溶液浇灌苗木。8 天后, 再用 0.2 L 200 mmol/L 的 NaCl 溶液浇灌。未浇盐溶液的苗木作为对照