

### 3种草坪草的耐盐性差异及其叶片的显微结构研究

陈智勇<sup>1</sup>, 胡忠红<sup>2</sup>, 蒋建雄<sup>1</sup>, 易自力<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>湖南农业大学生物科学技术学院, 长沙 410128; <sup>2</sup>湖南农业大学东方科技学院, 长沙 410128)

**摘要:** 为了解羊茅属高羊茅(*Festuca arundinacea* L)、早熟禾属草地早熟禾(*Poa pratensis* L)、黑麦草属多年生黑麦草(*Lolium Perenne* L)的耐盐性, 以高羊茅(‘凌志’、‘爱瑞三号’、‘阳光宝贝’)、草地早熟禾(‘纳苏’、‘抢手股’、‘优异’)、多年生黑麦草(‘首相’、‘焦点’)共8个品种为材料, 在不同浓度的NaCl水培营养液中对各种材料幼苗进行耐盐处理。试验结果表明: 草地早熟禾的耐盐临界浓度为200 mmol/L, 高羊茅和多年生黑麦草的耐盐临界浓度为150 mmol/L; 并确定8个品种的耐盐性差异: ‘抢手股’最好, ‘首相’最差。同时, 对其相关叶片显微结构(泡状细胞、维管束、表皮细胞、气孔器)进行了分析, 结果表明: 草地早熟禾由于具有与耐盐植物相近的结构而更能耐受较高的盐浓度。

**关键词:** 草坪草; 耐盐差异; 叶片显微结构

中图分类号: S688.4

文献标志码: A

论文编号: 2011-0070

#### Salt Resistance Between Three Kinds of Turfgrass and Related Research about Their Leaf Microstructure

Chen Zhiyong<sup>1</sup>, Hu Zhonghong<sup>2</sup>, Jiang Jianxiong<sup>1</sup>, Yi Zili<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128;

<sup>2</sup>College of Orient Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128)

**Abstract:** In order to understand the salt tolerance of *Festuca arundinacea* L, *Poa pratensis* L and *Lolium Perenne* L, 8 different varieties, *Festuca arundinacea* L (‘Barlexas’, ‘Arid III’, ‘Sunboy’), *Poa pratensis* L (‘Nassau’, ‘Bluechip’, ‘Merit’) and *Lolium Perenne* L (‘Prime’, ‘Focus’) had been treated by nutrient solution in different concentration of NaCl. The results showed that: the critical salt concentration of *Poa pratensis* L was 200 mmol/L, and the critical salt concentration of *Festuca arundinacea* L and *Lolium Perenne* L was 150 mmol/L; salt-tolerance of the differences: ‘Bluechip’ was the best, ‘Prime’ was the worst. The related leaf microstructures had been observed also, that included bulliform cell, vascular, epidermic cellstomatal apparatus. The results indicated: the capacity of salt tolerance of *Poa pratensis* L was due to its microstructures similar with other salt-tolerant plants.

**Key words:** turfgrass; the difference of salt resistance; leaf microstructure

#### 0 引言

在盐渍条件下, 植物生长受到盐离子和许多矿质养分离子之间交互作用的影响, 造成植物体内养分吸收、利用和分配的不平衡, 同时也会增加植物对必需营养元素的需求, 生长受到显著限制, 生长延缓, 叶色退

绿, 甚至植株死亡<sup>[1]</sup>。草坪草的耐盐性研究, 目前多集中于生理生化、膜指标变化的测定和田间观测<sup>[2-3]</sup>。研究以冷季型草坪草高羊茅(*Festuca arundinacea* L)、草地早熟禾(*Poa pratensis* L)、多年生黑麦草(*Lolium perenne* L)为材料, 对3种草坪草的耐盐差异和叶片的

**基金项目:** 湖南省自然科学基金项目(05JJ30036); 湖南省教育厅科学研究重点基金项目(05A022)。

**第一作者简介:** 陈智勇, 女, 1971年出生, 湖南衡阳人, 副教授, 博士, 研究方向: 植物遗传育种。通信地址: 410128 湖南农业大学生物科学技术学院, Tel: 0731-84673603, E-mail: zhiyongchen71@163.com。

**通讯作者:** 易自力, 男, 1959年出生, 湖南浏阳人, 教授, 博士, 研究方向: 植物遗传育种。通信地址: 410128 湖南农业大学生物科学技术学院, Tel: 0731-84673983, E-mail: yizili889@163.com。

**收稿日期:** 2011-01-11, **修回日期:** 2011-07-06。

显微结构进行了研究,目的是为阐明植物耐盐碱的机制,建立草坪草耐盐的细胞指标,为育种工作者选育耐盐碱草坪草品种提供细胞学资料和证据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

高羊茅(*Festuca arundinacea* L):‘凌志’(‘Barlexas’),‘爱瑞三号’(‘Arid III’),‘阳光宝贝’(‘Sunboy’);草地早熟禾(*Poa pratensis* L):‘纳苏’(‘Nassau’),‘抢手股’(‘Bluechip’),‘优异’(‘Merit’);多年生黑麦草(*Lolium perenne* L):‘首相’(‘Prime’),‘焦点’(‘Focus’)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 耐盐性梯度试验方法 草种种于装有沙土的花盆内,浇水,然后放于练苗室中,使其在室温下发芽出苗。待花盆中的草种萌发幼苗长至5 cm后,进行抗盐性浓度梯度试验,具体方法操作如下:

配制MS液体培养基1 L,放于冰箱备用。①配制不同浓度梯度的含盐营养液,其NaCl浓度分别为:0、50、100、150、200、250 mmol/L。②取出干净200 mL试管放于试管架上,根据每一品种的6个浓度进行编号注明,每试管加培养液60 mL。③每个品种分别从花盆内取出300株高度相近的幼苗,将幼苗的根洗净后,再取10株1组,放于不同盐浓度试管内,每浓度设置3个重复。④将试管架放于炼苗室培养,培养温度25~26℃,光照强度2000 lx。

1.2.2 叶片显微结构制片及观察方法 选各处理发育良好的植株叶片经切块、抽气后,叶片固定于卡尔诺氏固定液中,用70%酒精对固定好的材料进行保存<sup>[4]</sup>。采用石蜡切片法制片,切片厚度10~15 μm,酒精脱水,正丁醇透明,苏木精和铁矾染色,采用上海宏兹实业有限公司分装的环保封片胶(Van Mount)。用奥林帕斯显微镜及其成像系统观察照相。

## 2 结果和分析

### 2.1 耐盐性差异

2.1.1 统计幼苗死亡数量 对幼苗死亡数量进行统计,如表1所示。由表1中可以明显观察到3种草坪草中草地早熟禾的耐盐性最强,而多年生黑麦草表现最差。所有被试8个品种中草地早熟禾的抢手股表现最优,被试7天之后,所有溶液中的材料无一死亡;随着被试时间的延长和盐浓度的增加,14天时100 mmol/L及以上盐浓度的溶液中仅出现1株材料死亡的现象;21天时,200、250 mmol/L盐浓度的溶液中出现2株材料死亡。而多年生黑麦草首相的表现最差,被试7天之后100 mmol/L及以上盐浓度的溶液中均开始出现1株材料死亡的现象;14天时150 mmol/L及以上盐浓度

表1 各品种幼苗死亡数目统计 株

品种	处理时间/天	NaCl浓度/(mmol/L)					
		0	50	100	150	200	250
凌志	7	0	0	0	0	0	2
	14	0	0	0	1	1	4
	21	0	0	0	1	2	5
爱瑞三号	7	0	0	0	1	2	2
	14	0	1	1	3	3	3
	21	0	1	5	5	4	4
阳光宝贝	7	0	0	0	0	1	2
	14	0	0	0	1	2	3
	21	0	0	1	1	3	4
纳苏	7	0	0	0	0	0	1
	14	0	0	1	2	2	2
	21	0	0	2	2	3	3
抢手股	7	0	0	0	0	0	0
	14	0	0	1	1	1	1
	21	0	0	1	1	2	2
优异	7	0	0	1	1	1	1
	14	0	0	1	2	2	2
	21	0	1	1	2	2	2
首相	7	0	1	1	2	2	2
	14	0	1	3	4	5	5
	21	0	2	3	4	6	7
焦点	7	0	0	1	1	1	2
	14	0	1	1	1	2	3
	21	0	1	1	2	3	4

的溶液中开始出现3~5株材料死亡的现象;21天时,100~250 mmol/L盐浓度的溶液中出现2株甚至高达7株材料死亡。

2.1.2 盐溶液处理后的植株的高度变化 待植株在盐溶液中生长21天左右时进行第2次株高的测量,分析盐浓度对不同品种的影响。表2中的株高为5棵幼苗的平均株高的增长率(增长率=(现高-原高)/原高)。从表2中可以看到,随着NaCl浓度的增加和受试时间的延长,所有受试材料的株高增长率都呈下降的趋势。高羊茅的3个品种株高增长率明显低于其他的几个材料,‘爱瑞三号’受试21天之后,在NaCl浓度大于和等于100 mmol/L的营养液中培养的植株株高已停止增长。草地早熟禾的3个品种受试14天之后,随着NaCl浓度的增加虽然株高增长率都有所下降,但却明显高于其他5个品种;受试21天之后,不同NaCl浓度的营养液中培养的植株株高增长率都明显降低,而值得注

表2 21天后受试材料株高的增长率

品种	处理时间/天	NaCl浓度/(mmol/L)					
		0	50	100	150	200	250
凌志	14	0.149	0.068	0.040	0.037	0.031	0.005
	21	0.122	0.052	0.031	0.020	0.009	0.0012
爱瑞三号	14	0.157	0.126	0.060	0.056	0.028	0.012
	21	0.076	0.012	0	0	0	0
阳光宝贝	14	0.207	0.0513	0.0382	0.0146	0.0056	0.0053
	21	0.0135	0.0112	0.0079	0.0079	0.0073	0.0072
纳苏	14	1.076	0.979	0.910	0.841	0.834	0.352
	21	0.075	0.075	0.046	0.033	0.032	0.028
抢手股	14	0.604	0.271	0.200	0.108	0.058	0.046
	21	0.091	0.075	0.056	0.044	0.039	0.031
优异	14	0.588	0.457	0.355	0.269	0.212	0.094
	21	0.080	0.029	0.028	0.020	0.016	0.007
首相	14	0.067	0.055	0.051	0.041	0.029	0.028
	21	0.051	0.043	0.040	0.037	0.027	0.019
焦点	14	0.059	0.053	0.047	0.039	0.027	0.021
	21	0.057	0.043	0.041	0.037	0.028	0.018

意的是NaCl浓度为0 mmol/L的营养液中培养的植株株高增长率也明显低于受试14天之后。多年生黑麦草的2个品种随着NaCl浓度的增加和受试时间的延长,株高增长率都呈下降的趋势。

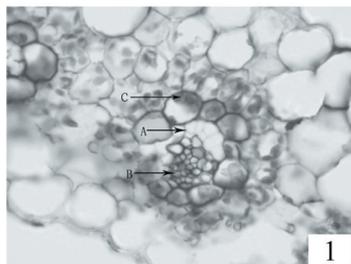
综合各品种盐胁迫下的幼苗死亡率和株高增长率的数据可见,草地早熟禾3个品种对NaCl的耐受能力优于其他5个品种。

## 2.2 叶片显微结构观察

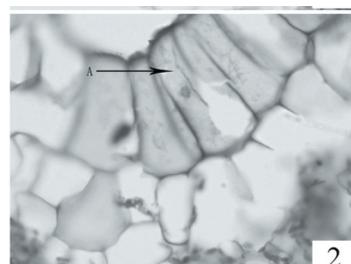
对200 mmol/L NaCl浓度胁迫7天后草地早熟禾叶片,150 mmol/L NaCl浓度胁迫7天后高羊茅和多年生黑麦草叶片进行石蜡切片处理,在经过苏木精、铁矾染色后,在显微镜下观察其维管束、泡状细胞、气孔器等结构,以期找到与盐生植物相似的形态结构。

将制作好的石蜡切片放于显微镜下观察(图1~9)

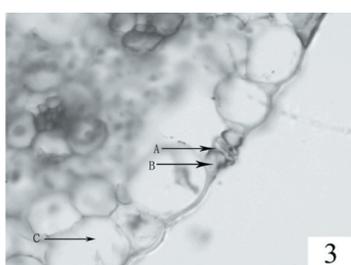
可以看到维管束细胞,泡状细胞,表皮细胞以及保卫细胞。其中草地早熟禾维管束(图1)近圆形,韧皮部较发达(图1B),在维管束外有明显的环状维管束鞘(图1C),这为明显的C4植物标志<sup>[9]</sup>;而高羊茅(图4)和多年生黑麦草(图7)的维管束近椭圆形,有明显发达的木质部(图4A,图7A)。对3种草坪草20个泡状细胞进行测量得到其平均直径,得出高羊茅、草地早熟禾、多年生黑麦草的泡状细胞平均值分别为85.6、51.5、56.1  $\mu\text{m}$ ,泡状细胞较为发达,其中高羊茅的泡状细胞(图5A)平均直径最大,多年生黑麦草的泡状细胞(图8A)直径也明显大于相邻表皮细胞;草地早熟禾的泡状细胞(图2A)体积虽有膨大,但较相邻表皮细胞膨大不明显。表皮细胞(图3C,图6C,图9C)均为清晰规则排列,2个保卫细胞(图3A,图6A,图9A)闭合构成气孔器。



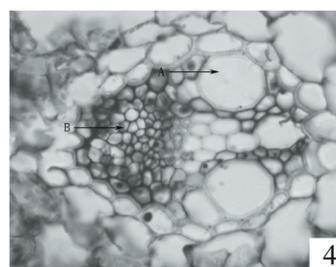
A: 木质部, B: 韧皮部, C: 花环状维管束鞘  
图1 草地早熟禾叶脉维管束(400 $\times$ )



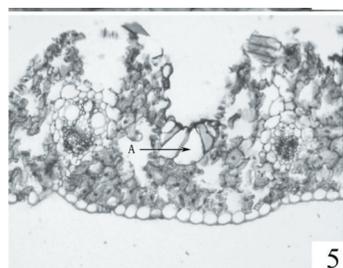
A: 泡状细胞  
图2 草地早熟禾叶片泡状细胞(400 $\times$ )



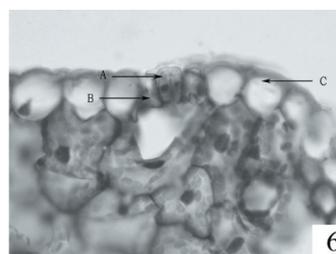
A: 保卫细胞, B: 副卫细胞, C: 表皮细胞  
图3 草地早熟禾叶片气孔器(400×)



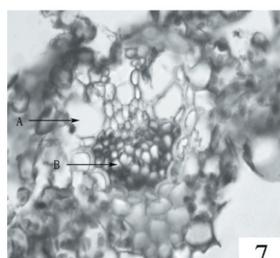
A: 发达的木质部, B: 韧皮部  
图4 高羊茅叶脉维管束(400×)



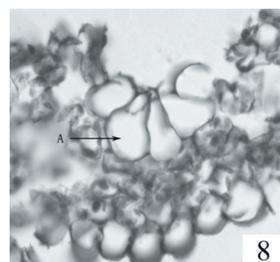
A: 明显膨大的泡状细胞  
图5 高羊茅叶片明显膨大的泡状细胞(100×)



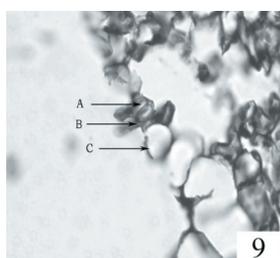
A: 保卫细胞, B: 副卫细胞, C: 表皮细胞  
图6 高羊茅叶片气孔器(400×)



A: 木质部, B: 韧皮部  
图7 多年生黑麦草叶脉维管束(400×)



A: 明显膨大的泡状细胞  
图8 多年生黑麦草叶片明显膨大的泡状细胞(400×)



A: 保卫细胞, B: 副卫细胞, C: 表皮细胞  
图9 多年生黑麦草叶片气孔器(400×)

### 3 讨论

盐胁迫发生机理主要有以下几个方面:一是渗透胁迫、盐胁迫下,植物细胞内渗透势大于细胞外渗透势,细胞失水致使植物缺水形成生理干旱;二是离子毒害作用<sup>[6]</sup>,不同离子过量渗入细胞后,使原生质凝集,叶绿素破坏,蛋白质合成受到抑制,蛋白质水解作用加强,造成氨基酸积累,达到一定浓度时,细胞就会中毒死亡;另一方面,这些离子的存在使得一些低浓度的矿

物质营养元素供应不足,降低光合作用和呼吸作用的强度,植物因此生长受抑制<sup>[7]</sup>。

一些盐生植物,如豆瓣绿属植物、马齿苋科植物以及番茄科植物冰草等,在盐渍或水分胁迫下可以改变光合碳同化途径,即由C<sub>3</sub>途径变为CAM途径<sup>[8]</sup>。CAM植物在夜间开放气孔进行CO<sub>2</sub>的吸收和固定,白天气孔关闭减少蒸腾失水。还有一些盐生植物如獐毛,在盐渍条件下,其代谢途径可由C<sub>3</sub>途径改变为C<sub>4</sub>途径,增强了光合作用<sup>[9]</sup>。盐胁迫下植物的光合速率较低,但是光合潜能受到的影响不显著。光合速率的降低可能有以下几方面的原因:(1)细胞膜脱水降低了对CO<sub>2</sub>的渗透性;(2)盐毒害;(3)气孔主动关闭引起的CO<sub>2</sub>供应量减少;(4)盐分引起衰老叶片增多;(5)细胞质结构改变引起的酶活性发生变化;(6)库活力降低引起的负反馈。

此外,还有很多与耐盐相关的特殊解剖结构。例如,耐盐植物结缕草通过叶片盐腺排出盐离子,而其耐

盐性与叶片盐腺密度有关<sup>[10]</sup>。盐碱生境中的植物通常是具有肉质化的根和叶,在叶鞘内形成通气组织,具有发达的维管组织:木质部、韧皮部,叶片上高度发达的泡状细胞及硬度增强的根和叶。此外,高盐环境下的植物气孔密度和面积会减少<sup>[11]</sup>。泡状细胞是禾本科植物的叶上一些成纵行而增大的表皮细胞或其他类似的细胞,因为这种细胞常被认为与叶的卷曲和伸开的作用有关,所以也称为运动细胞。泡状细胞在叶片卷曲过程中起重要的作用,在水分吸收和保持细胞水势中起一定的作用,以防盐害胁迫下水分丢失<sup>[12-14]</sup>。在高盐环境下 *Deschampsia antarctica* 会形成发达的泡状细胞<sup>[15]</sup>。

试验从叶片石蜡切片观察到,高羊茅和多年生黑麦草都具有发达的木质部和韧皮部,其泡状细胞通过测微尺测量细胞直径平均值分别为 85.6、56.1  $\mu\text{m}$ ; 而草地早熟禾虽然没有发达的木质部和韧皮部,泡状细胞直径平均值为 51.5  $\mu\text{m}$ ,在 3 种草坪草中泡状细胞直径最小,但它是一类 C4 植物,具有明显的花环状维管束鞘。在耐盐测试中,草地早熟禾的表现最好,高羊茅次之,而多年生黑麦草最差。由此可以推测,在这 3 种草坪草的叶片结构中,能调节代谢途径、增强光合作用的结构(C4 植物的花环状维管束鞘)可能是影响其耐盐能力的主要因素,发达的维管组织和可调节叶片卷曲程度的结构(泡状细胞),可能是影响其耐盐能力的次要因素。

本研究仅从草坪草的耐盐差异和其叶片显微结构之间的相关性做了一些初步的分析,希望能在此基础上利用生物化学与分子生物学技术对草坪草的耐盐机理进行更深入地研究,从而为草坪草的抗盐育种提供新的理论依据。

### 参考文献

- [1] 于辉,沈益新.海盐胁迫对苇状羊茅和多年生黑麦草种子发芽的影响[J].草业科学,2004,21(10):41-43.
- [2] 梁慧敏,夏阳,杜峰,等.盐胁迫对两种草坪草抗性生理生化指标影响的研究[J].中国草地,2001,23(5):27-30.
- [3] 刘宁,高玉葆,贾彩霞,等.渗透胁迫下多花黑麦草叶内过氧化物酶活性和脯氨酸含量以及质膜相对透性的变化[J].植物生理学通讯,2000,36(1):11-14.
- [4] 杨捷频.常规石蜡切片方法的改良[J].生物学杂志,2006,23(1):45-46.
- [5] 史刚荣,赵金丽,马成仓.淮北相山不同群落中 3 种禾草叶片的生态解剖[J].草业学报,2007,16(3):62-68.
- [6] 苏金,朱汝财.渗透胁迫调节的转基因表达对植物抗旱耐盐性的影响[J].植物学通报,2001,18(2):129-136.
- [7] 杨富裕,周禾.草坪草抗盐性研究进展[J].草原与草坪,2001(1):10-13.
- [8] 董丽华,兰剑,姚爱兴.草坪草抗盐、抗旱性研究进展[J].宁夏大学学报:农业科学版,2004,25(3):84-87.
- [9] 吴欣明,王运琦,刘建宁,等.羊茅属植物耐盐性评价及其对盐胁迫的生理反应[J].草业学报,2007,16(6):67-73.
- [10] Marcum K B, Anderson S J, Engel K M C. Salt gland ion secretion: a salinity tolerance mechanism among five zoysiagrass species[J]. Crop Sci,1998,38:806-810.
- [11] Hameed M, Ashraf M, Naz N. Anatomical adaptations to salinity in cogon grass (*Imperata cylindrica* L.) Raeuschel from the Salt Range Pakistan[J]. Plant Soil,2009,322:229-238.
- [12] Abernethy G A, Fountain D W, Mcmanus M T. Observations on the leaf anatomy of *Festuca novae zelandiae* and biochemical responses to a water deficit[J]. New Zealand Journal of Botany,1998,36:113-123.
- [13] Balsamo R A, Willigen C V, Bauer A M, et al. Drought tolerance of selected Eragrostis species correlates with leaf tensile properties[J]. Ann Bot (Lond),2006,97:985-991.
- [14] Alvarez J M, Rocha J F, Machado S R. Bulliform cells in *Loudetiopsis chrysothrix* (Nees) Conert and *Tristachya leiostachya* Nees (Poaceae): structure in relation to function[J]. Braz Arch Biol Technol,2008,51:113-119.
- [15] Gielwanowska I, Szczu K A E, Bednara J, et al. Anatomical features and ultrastructure of *Deschampsia antarctica* (Poaceae) leaves from different growing habitats[J]. Ann Bot(Lond),2005,96:1109-1119.

[1] 于辉,沈益新.海盐胁迫对苇状羊茅和多年生黑麦草种子发芽的影响