

盐胁迫对三色苋叶片气孔分化及开闭的影响

任安祥, 王羽梅*

(韶关学院英东生物工程学院, 广东韶关 512005)

摘要: 以三色苋 (*Amaranthus tricolor* L.) 为材料, 研究了不同浓度 (0、50、150、300、500 mmol · L⁻¹) NaCl 处理后气孔的应答反应和 300 mmol · L⁻¹ NaCl 长时间处理后对不同叶序叶片气孔开闭和分化的影响。结果表明, 盐处理后三色苋的气孔不同程度地迅速关闭, 气孔开放率在处理 3 h 后达到最低, 之后小幅回升。24 h 后除 50 mmol · L⁻¹ NaCl 处理外, 仍有多数气孔处于关闭状态。长时间盐胁迫使基层的叶片气孔密度略有增加; 上层新叶的气孔密度显著降低。长时间盐胁迫使气孔的开放率也降低, 越是新分化的叶片盐胁迫对其气孔影响也越大。

关键词: 三色苋; 盐胁迫; 气孔开闭; 气孔密度

中图分类号: S 636.4

文献标识码: A

文章编号: 0513-3563X (2010) 03-0479-06

Effects of Salt Stress on Stomatal Differentiation and Movements of *Amaranth* (*Amaranthus tricolor* L.) Leaves

REN An-xiang and WANG Yu-mei*

(College of Yingdong Bioengineering, Shaoguan University, Shaoguan, Guangdong 512005, China)

Abstract: This experiment was conducted to explore the effects of salt stress on stomatal movements and differentiation of amaranth leaves. Responses of stomata to different concentration of NaCl stress (0, 50, 150, 300 and 500 mmol · L⁻¹), stomatal movements and differentiation of different phyllotaxy leaves after long time treated with 300 mmol · L⁻¹ NaCl were investigated using the *Amaranthus tricolor* L. plant as materials. The results showed that the stomata of amaranth leaves closed rapidly after treated by salt. Stomatal aperture failed to the lowest after three-hour salt stress, afterwards, raised a litter. After 24 hour salt treating, most stomatas were closure except 50 mmol · L⁻¹ NaCl treatment. Long time salt stress increased slightly stomatal density of the lower leaves, and reduced remarkably stomatal density of the upper fresh leaves. Long time salt stress also reduced stomatal aperture. Salt stress showed a more notable effect on stomata in the newer differentiation leaf.

Key words: *Amaranthus tricolor* L.; salt stress; stomatal movements; stomatal density

植物气孔密度及气孔大小会因光照、水分、温度、盐、风速、空气污染程度等因素的综合作用而发生改变, 这些环境因子也会直接影响气孔的开闭 (Sharkey & Raschke, 1981; Rowland-Barnford et al., 1990; Ro et al., 2001; 张浩 等, 2004)。

收稿日期: 2009 - 12 - 14; **修回日期:** 2010 - 02 - 22

基金项目: 广东省自然科学基金项目 (021272); 教育部留学回国人员启动基金项目 (教外司留[2002]247 号)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: wym990@vip.sina.com)

三色苋 (*Amaranthus tricolor* L.) 是苋科植物的重要栽培种之一, 作为蔬菜、提取色素的原料以及观赏植物被广泛利用。作者在对三色苋的抗盐性研究中发现, 用 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaCl 处理后, 叶片的气孔导度随着处理时间的延长而降低。解除胁迫后, 气孔导度可以逐步恢复, 但一周后仍未达到处理前的水平 (Wang & Nii, 2000)。这表明盐对气孔运动的影响具有一定程度的不可逆性。在对三色苋气孔分化和发育的研究中发现, 三色苋的气孔会随着叶龄的老化而失去运动功能, 甚至崩溃 (任安祥 等, 2004)。关于环境条件对三色苋气孔运动和分化的研究尚未见报道。

作者研究了盐胁迫后三色苋叶片气孔的闭合情况及长时间盐胁迫对气孔分化及开闭的影响, 从气孔运动的规律了解三色苋对盐胁迫的应答, 以期为提高植物的抗盐性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 短时间盐胁迫处理

试验于 2004 年 4—7 月在日本名城大学农学部试验场温室中进行。试验材料购置于日本 TAKII 种子公司。

将在 25°C 下发芽的三色苋的种子播种在 200 mL 容积 (基质为珍珠岩) 的营养钵中, 每钵 1 株, 置玻璃温室中。出苗后用 $1/2\text{MS}$ 营养液浇灌。播种 50 d 后 (晴天 9 时) 选择生长健壮、整齐一致的三色苋幼苗分别用 0、50、150、300 和 $500 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的 NaCl 进行基质浇灌处理, 每个处理为 3 株, 每株 100 mL 。不同浓度的盐溶液用营养液配制。

分别在处理后的 1、3、5、7、24 h 取样观察。用镊子从下数第 4 片叶 (在植株上居中, 为完全展开的成熟功能叶) 中央 (避开较粗叶脉) 部位剥离下表皮, 将其放在载玻片上, 滴一滴固定液后加盖玻片, 立刻在光学显微镜下观察。各处理区各取来自 3 个植株的 3 片叶, 统计大约 500 个气孔。计算开放气孔占总观察气孔的百分率。

1.2 长时间盐胁迫处理

将播种 40 d 的三色苋幼苗用 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaCl 连续处理, 以不含盐的营养液为对照。处理方法是每天用含盐的 $1/2\text{MS}$ 营养液从营养钵上浇灌 1 次, 将下面开孔的营养钵放在托盘中, 营养钵中多余的含盐营养液漏在托盘中, 营养钵基部约 2 cm 浸在营养液中。为了防止因蒸腾引起的盐浓度的变化, 每隔 1 d 更换托盘中的营养液一次。处理 28 d 后, 先测定各观察叶的大小和叶序, 然后剥离不同叶序、不同大小的叶片下表皮观察气孔数量和开放率。气孔密度为 5 个视野内全部气孔数的平均值, 从显微镜视野面积计算叶面积, 以单位叶面积的气孔数计算气孔密度。

2 结果与分析

2.1 短时间盐胁迫后三色苋气孔的开闭

用不同浓度的 NaCl 处理三色苋幼苗 1 h 后均观察到了气孔迅速关闭, 处理 3 h 后开放的气孔数达到了最低值, 其中, $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理气孔开放率为 66%, $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上的处理之间差异不大, 气孔开放率只有对照的 18.1% ~ 25.1%。之后一直到当日傍晚, 各处理气孔开放率都出现了缓慢的小幅回升。但是到处理 24 h 后, 除 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理恢复较快, 接近对照 (相当于对照的 93.6%) 外, 150 和 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理区只分别恢复到了对照的 53.7% 和 50.5%, 而 $500 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理区关闭的气孔不能再度开放, 气孔开放率继续降低, 80% 以上的气孔处于关闭状态 (图 1)。

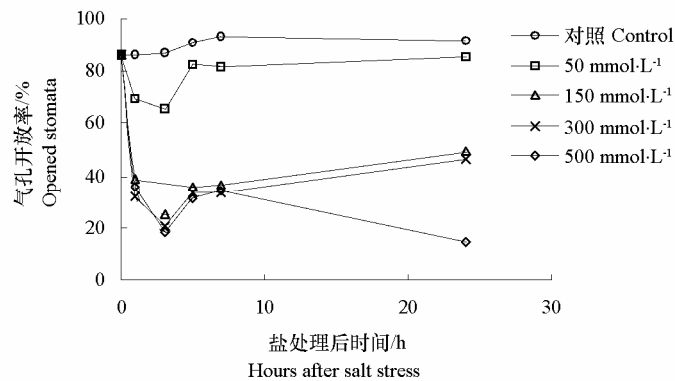


图1 不同浓度的NaCl处理后三色苋叶片开放气孔百分率的变化

Fig. 1 Changes of percentage of opened stomata in amaranth leaves treated with different concentration of NaCl

以上结果表明, 三色苋气孔的运动对盐胁迫的反应是敏感而快速的, 盐胁迫后, 通过快速关闭气孔来减少水分的蒸腾, 以减少吸水困难造成的伤害。胁迫 3 h 后部分气孔的开启可能和植株对盐胁迫有了一定的适应性有关。可以认为气孔的快速关闭是植物对盐胁迫等逆境的积极应答反应。

2.2 长时间盐胁迫对三色苋气孔分化与开闭的影响

2.2.1 气孔密度

三色苋叶片的气孔密度最初随着叶的扩大而增加, 当叶长达 4 cm 时气孔密度达到了最高, 此后逐渐降低, 当叶长达 7 cm 时气孔密度趋于稳定, 表明三色苋气孔的分化在较小的幼叶上旺盛进行, 随着叶面积的扩大, 气孔的分化速度减缓, 气孔密度降低。由于盐胁迫使叶的生长变慢, 所以盐处理气孔密度的高峰期出现在叶长 2 cm 左右时。盐处理的最大气孔密度只约有对照的 50% (图 2, A)。表明盐胁迫不但抑制了叶片的扩大生长, 也强烈抑制了气孔在新生叶上的分化。

相同叶龄的气孔密度的比较结果表明, 距生长点越近的心叶气孔密度受盐胁迫的影响越大, 这些叶片是在盐处理期间分化、生长的, 盐处理使这些叶片上的气孔密度明显降低。但是, 对盐处理时已经展开的基部叶片来说, 盐处理的叶气孔密度高于对照 (图 2, B)。这是因为这些叶在盐处理时气孔分化已经完成, 由于盐处理使叶片的扩大受到了抑制, 从而导致气孔密度偏高。以上结果表明, 盐处理对不同生长阶段的叶片气孔密度影响不同。

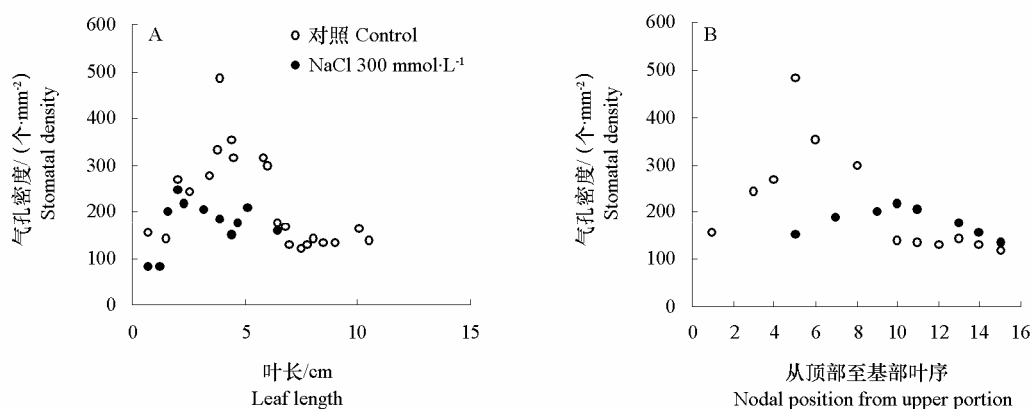


图2 长时间盐处理后三色苋叶片的气孔密度

Fig. 2 Stomatal density in the amaranth leaves treated with 300 mmol · L⁻¹ NaCl for 28 days

2.2.2 气孔成熟率

上述气孔密度包括了正在分化中的气孔,从我们对气孔分化的观察结果可知,处于分化中的气孔已经显现出了气孔的形状,但气孔尚未打开,还不能发挥气孔的功能,我们把这样的气孔称为未成熟气孔(任安祥等,2004)。图3是各处理成熟气孔占气孔总数的比例。如以叶的大小为基准进行比较的话,在对照叶长达7 cm以上时,成熟气孔达到了100%;而在盐处理叶长达4 cm以上时,气孔就已经全部完成分化,成熟气孔达到了100%(图3, A)。可以判断这些叶在盐处理开始时气孔的分化已经完成,由于盐处理使叶片的扩展受到了抑制,所以盐处理的叶在比较小时就已经全部完成分化。如果以叶龄为基准进行比较的话,成熟气孔达到100%时对照相当于基部以上第7~9片叶;而处理在基部以上第4片叶(图3, B)。表明气孔的分化均在达到一定叶龄时而停止。

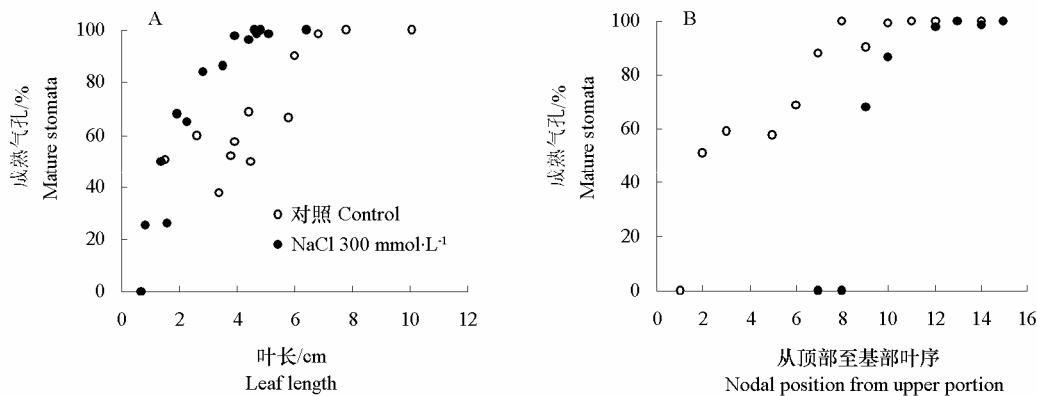


图3 长时间盐胁迫后三色苋叶片气孔的成熟率

Fig. 3 Percentage of mature stomata in the amaranth leaves treated with 300 mmol·L⁻¹ NaCl for 28 days

2.2.3 气孔开放率

图4是分别以叶长和叶龄为横坐标表示的三色苋气孔的开放率。从图4可以看出,长时间盐胁迫使气孔的开放率显著降低。伴随着叶片的扩大和老化,对照的气孔开放率略呈降低趋势,但最下层的叶片仍有高达80%的气孔处于开放状态。而盐处理的气孔开放率下降速度很快,最低时只有54.4%(图4, A)。

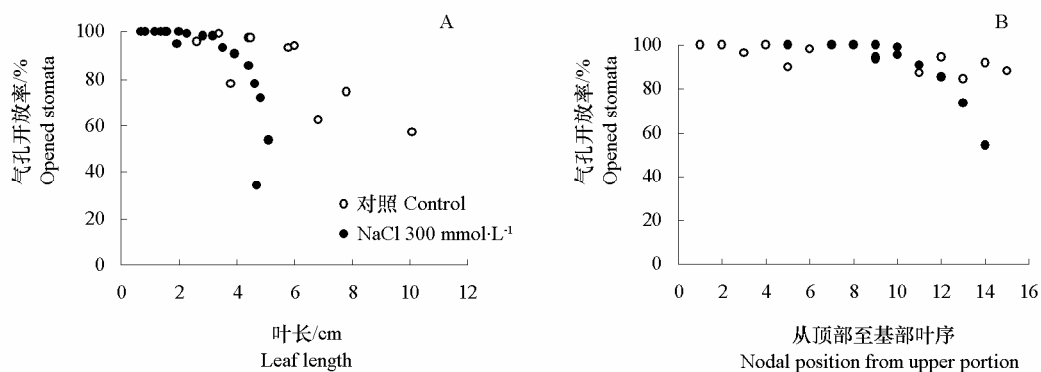


图4 长时间盐胁迫后三色苋叶片的气孔开放率

Fig. 4 Percentage of opened stomata in the amaranth leaves treated with 300 mmol·L⁻¹ NaCl for 28 days

以上结果表明盐胁迫不但显著地抑制了三色苋气孔的分化数量, 而且还会导致已分化气孔的关闭。盐胁迫下气孔数的减少和关闭对减少植株体内水分的散失, 应对胁迫的危害具有积极的生理意义。同时, 可以推测, 分化和开放气孔数的减少也是盐胁迫使生长受到显著抑制的原因之一。

3 讨论

土壤水分和盐浓度是对气孔运动影响较大的因素。植物遇到干旱和盐胁迫, 为了减少体内水分的散失, 气孔的开度变小甚至关闭的现象较为普遍。如张川红等(2002)研究发现, 盐胁迫下核桃气孔存在不均匀关闭现象, 国槐气孔开度变小。朱广石(2004)对牧草的研究也发现, 随着盐浓度的增加, 质壁分离现象以及气孔关闭情况趋于严重。而且, 较耐盐的牧草气孔关闭情况比不耐盐的更明显。温国胜等(2003)的研究也表明, 在干旱胁迫条件下, 臭柏的气孔迅速地关闭, 降低蒸腾速率。本文的研究结果与这些报道相一致。可以认为, 盐胁迫后气孔关闭的现象不但可以减少水分的损失, 也是防止高渗溶液进入叶表皮的保护功能之一, 是植物对盐胁迫的积极应答。

关于干旱和盐胁迫对气孔密度的影响也有一些报道, 如于海秋等(2003)研究发现, 水分胁迫下的玉米叶片气孔密度增大, 气孔的长、宽明显减小。赵姝丽等(2006)研究结果表明, 随着盐分胁迫程度的增加, 两个品种水稻的剑叶气孔密度均明显增加。高彦萍等(2007)研究发现经水分胁迫的大豆叶片气孔密度增加, 随着水分胁迫程度增加和时间延长, 叶面气孔密度明显增大。杨惠敏和王根轩(2001)、张永平等(2006)的研究也表明, 小麦随干旱程度的加剧, 气孔密度有明显的上升趋势。显然, 以上胁迫后气孔密度的增加与胁迫使叶面积变小, 从而提高了单位叶面积上的气孔个数有密切的联系。

由于盐或水胁迫使叶面积的扩大受到了抑制, 所以使气孔分化及分布密度的比较基准复杂化。据作者以前对三色苋气孔分化的研究所知, 叶长 2.1 ~ 2.4 cm, 叶面积 0.8 ~ 0.9 cm² 的未展开叶正是气孔活跃分化时期(任安祥 等, 2004)。本试验盐处理开始时的未展开叶正处于气孔旺盛分化期, 而处理时叶长 4 cm 以上叶的大部分气孔已完成分化。这样盐处理对气孔密度的影响因处理时叶的大小而异。本文以叶大小和叶龄为基准分别进行了气孔密度的比较, 对盐处理时已经展开的叶来说, 盐处理使气孔密度比对照增加, 这些叶片上气孔密度的增加和上述报道的结果相一致。这是因为这些叶在盐处理时气孔分化已经完成, 由于盐处理使叶片的扩大受到了抑制, 从而导致气孔密度偏高。但是, 我们的研究发现, 在距生长点较近的新叶上的气孔密度却比对照低很多。盐处理使临近生长点的新叶气孔密度明显降低, 是因为这些叶的气孔是随着叶的生长而分化。也就是说当叶片处于气孔分化期遇到盐胁迫的话, 气孔的分化就受到显著的抑制, 气孔密度降低。对三色苋来说这种影响以处理时叶长在 2 cm 以下的叶为最大。另外, 无处理区的气孔密度在叶长达 4 cm 左右时达到最高, 而盐处理区的气孔密度的峰值出现在叶长为 2 cm 左右时, 比对照区出现气孔密度的峰值时小, 这是因为盐抑制了叶片的扩展造成的。

盐胁迫不但使三色苋叶片上分化的气孔数量减少, 而且还使一些已分化的气孔关闭。这表明植物在盐或水分胁迫条件下, 通过减少气孔的数量和关闭气孔尽可能的减少失水, 来提高植物水分利用效率。

References

- Gao Yan-ping, Feng Ying, Ma Zhi-jun, Li Qiang, Zhang Xiu-juan. 2007. Stomatal character changes of soybean leaves under water stress. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 25 (2): 77 - 79. (in Chinese)
- 高彦萍, 冯 莹, 马志军, 李 强, 张秀娟. 2007. 水分胁迫下不同抗旱类型大豆叶片气孔特性变化研究. *干旱地区农业研究*, 25 (2):

77 - 79.

- Ren An-xiang, Wang Yu-mei, Nii Naosuke. 2004. Study on stomatal development of *Amaranthus tricolor*. Bull. Etin of Botanical Research, 24 (3): 301 - 304. (in Chinese)
- 任安祥, 王羽梅, 新居直佑. 2004. 三色苋气孔发育的研究. 植物研究, 24 (3): 301 - 304.
- Ro H M, Kim P G, Lee I B. 2001. Photosynthetic characteristics and growth responses of dwarf apple (*Malus domestica* Borkh. cv. Fuji) saplings after 3 years of exposure to elevated atmospheric carbon dioxide concentration and temperature. Trees, 15: 195 - 203.
- Rowland-Barnford A J, Nordenbrock C, Baker J T. 1990. Changes in stomatal density in rice grown under vari-ous CO₂ regimes with natural solar irradiance. Environment and Experimental Botany, 30: 175 - 180.
- Sharkey T D, Raschke K. 1981. Separation and measurement of direct and indirect effects of light on stomata. Plant Physiology, 68: 33 - 40.
- Wang Y, Nii N. 2000. Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. Horticultural Science and Biotechnology, 76: 623 - 627.
- Wen Guo-sheng, Zhang Guo-sheng, Zhang Ming-ru, Wang Lin-he, Yoshikawa K. 2003. Stomatal transpiration and cuticular transpiration of *Sabina vulgaris* under drought stress. Journal of Zhejiang Forestry College, 20 (3): 268 - 272. (in Chinese)
- 温国胜, 张国盛, 张明如, 王林和, 吉川贤. 2003. 干旱胁迫条件下臭柏的气孔蒸腾与角质层蒸腾. 浙江林学院学报, 20 (3): 268 - 272.
- Yang Hui-min, Wang Gen-xuan. 2001. Leaf stomatal densities and distribution in *Triticum aestivum* under drought and CO₂ enrichment. Acta Phytocologica Sinica, 25 (3): 312 - 316. (in Chinese)
- 杨惠敏, 王根轩. 2001. 干旱和 CO₂ 浓度升高对旱区春小麦气孔密度及分布的影响. 植物生态学报, 25 (3): 312 - 316.
- Yu Hai-qiu, Wu Zhi-hai, Shen Xiu-ying, Xu Ke-zhang. 2003. Changes of stomatal density, length, width and microstructure of maize leaves under water stress. Journal of Jilin Agricultural University, 25 (3): 239 - 242. (in Chinese)
- 于海秋, 武志海, 沈秀瑛, 徐克章. 2003. 水分胁迫下玉米叶片气孔密度、大小及显微结构的变化. 吉林农业大学学报, 25 (3): 239 - 242.
- Zhang Chuan-hong, Yin Wei-lun, Shen Ying-bai. 2002. Effect of salinity on stomatal density in pagoda tree and walnut seedlings. Journal of Beijing Forestry University, 24 (2): 1 - 5. (in Chinese)
- 张川红, 尹伟伦, 沈应柏. 2002. 盐胁迫对国槐与核桃气孔的影响. 北京林业大学学报, 24 (2): 1 - 5.
- Zhang Hao, Wang Xiang-Yong, Wang Shou-bing. 2004. A study on stomatal traits of *Platanus acerifolia* under urban stress. Journal of Fudan University: Natural Science, 43 (4): 651 - 656. (in Chinese)
- 张 浩, 王祥荣, 王寿兵. 2004. 城市胁迫环境下的二球悬铃木叶片气孔数量特征分析. 复旦学报: 自然科学版, 43 (4): 651 - 656.
- Zhang Yong-ping, Wang Zhi-min, Wu Yong-cheng, Zhang Xia. 2006. Stomatal characteristics of different green organs in wheat under different irrigation regimes. Acta Agronomica Sinica, 32 (1): 70 - 75. (in Chinese)
- 张永平, 王志敏, 吴永成, 张 霞. 2006. 不同供水条件下小麦不同绿色器官的气孔特性研究. 作物学报, 32 (1): 70 - 75.
- Zhao Shu-li, Chen Wen-fu, Ma Dian-rong, Zhao Fei. 2006. Influence of different salt level on stomatal character in rice leaves. Reclaiming and Rice Cultivation, (6): 26 - 29. (in Chinese)
- 赵姝丽, 陈温福, 马殿荣, 赵 飞. 2006. 盐胁迫对水稻叶片气孔特性的影响. 垦殖与稻作, (6): 26 - 29.
- Zhu Guang-shi. 2004. The analysis of herb seeds about different salt-resisting and cell tissue. Agriculture & Technology, 24 (1): 34, 39. (in Chinese)
- 朱广石. 2004. 牧草种子不同耐盐性与细胞组织关系初步研究. 农业与技术, 24 (1): 34, 39.