

红三叶种子萌发及幼苗生长对混合盐胁迫的响应

袁国庆¹, 申忠宝², 张瑞博², 李道明², 潘多锋², 王建丽², 高 超²

(1. 黑龙江省明水县种子管理站, 黑龙江 明水 151700; 2. 黑龙江省农业科学院 草业研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:为了评价红三叶(*Trifolium pretense*)的耐盐碱能力,以红三叶新品系 Z1308 为对象,研究了该品系种子萌发及幼苗生长对不同浓度(0、40、80、120、160、200 mmol·L⁻¹)碱性盐溶液(NaCl、Na₂SO₄、NaHCO₃和 Na₂CO₃)胁迫的响应规律。结果表明:红三叶在低浓度(≤ 40 mmol·L⁻¹)胁迫时种子萌发能力和幼苗生长较强,而在高浓度(≥ 80 mmol·L⁻¹)胁迫时则显著降低($P < 0.05$)。红三叶发芽势、发芽率、发芽指数、种子活力指数与碱性盐溶液浓度均呈极显著的负相关($P < 0.01$),其种子萌发的碱性盐溶液浓度的临界值为 102.2 mmol·L⁻¹。红三叶根的生长对碱性盐胁迫更敏感。

关键词:红三叶,碱性盐,种子萌发,幼苗生长

中图分类号:S812;S330 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2016)01-0145-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.01.0145

土地盐碱化是当前世界所关注的全球性重大生态问题,它不仅给农牧业生产带来严重的经济损失,而且还对生态环境安全构成巨大的威胁^[1-2]。当今人类面临人口增加迅速,水土流失严重,淡水资源日益匮乏等严酷的现实,迫使人们开

发利用盐碱荒地,已达到增加可耕地面积、缓解粮食危机、改善生态环境的目的。土壤改良是盐碱地开发利用的前提条件和首要任务,筛选和种植优良抗盐碱植物品种被公认为是盐碱地土壤改良最为有效的途径^[3-6]。植物的耐盐碱能力与其自身的特性密切相关,同时在很大程度上也依赖于其所处的生长发育阶段^[7-8]。因此,研究植物种子萌发及幼苗生长对盐碱胁迫的响应特征及规律,对耐盐碱植物的筛选与应用具有重要的现实意义。

收稿日期:2015-10-29

基金项目:黑龙江省农业科技创新工程院级科研资助项目(2012ZD001)

第一作者简介:袁国庆(1969-),男,黑龙江省明水县人,农艺师,从事种子管理及牧草育种方面的研究。E-mail:yuanguoqing1969@163.com。

保加利亚多年生优质牧草特种和品种

Aneliya Ilieva Katova

(饲料作物研究所,普列文 保加利亚 5800)

摘要:为了获得可持续性的农业饲料作物产量,发展多样的能够将高产的生态稳定性相结合的饲料作物是非常必要的。保加利亚的多年生草原育种工作,已经有 49 年之久,尤其是在普列文的饲料作物研究所。繁殖计划的目标是开发新的多年生草品种饲料和产量高的种子,高饲料质量和高适应性的牧场,提高干草和景观的利用率。于 1966-2015 期间,收集并研究了普列文大量的寒冷和温暖的气候常年饲料草饲料作物研究所的初始育种材料(当地人口和引进品种)。植物生物多样性的新形式和品种是应用传统和现代育种方法有目的地有效选择通过生产力和自适应性,生态基因分析量化特征,多倍化,以及种间杂交。2007 年,梅勒尔贝克在比利时遗传和育种研究所提出倍性水平,样本通过 Partec 细胞分析仪 CA-II 和软件 DPAC(德国明斯特)进行分析。荧光发射强度与 DNA 数量呈线性相关,此实验获得了直方图。在这几年当中,六种不同的多年生草类物种已经演变成:鸭茅、无芒雀麦、尼卡、高羊茅、阿乐贝纳、多年生黑麦草、冰草和摩拉瓦洒,并根据 CPVO (2011)和 UPOV (2006)对新品种的技术准则进行了描述。这些多年生牧草品种有许多有价值的特性,例如有非常高的饲料价值和种子生产效率,具有持续性、胁迫耐受性、牧草优质,可以利用其不同的方向和倍性水平。饲料作物研究所保持注册品种和生产基础种子。

关键词:多年生草本植物;品种;产草量;牧草品质;倍性水平

红三叶(*Trifolium pretense*)是豆科中最重要的—种牧草。在美国、英国、新西兰、澳大利亚等牧草发达国家,其种植面积仅次于紫花苜蓿(*Medicago stiva* L.),位列第二^[9-10]。红三叶在我国的种植历史悠久,面积广阔,是一种利用价值较高的优良牧草^[11]。此外,红三叶外形美观、根系发达,全株黄酮、异黄酮类化合物含量丰富,也被用作园林绿化、固土护坡及药物提取^[12]。目前,关于红三叶耐盐性的研究主要集中在单一(NaCl)或两种(NaCl+Na₂SO₄)中性盐胁迫下的形态、生理生化变化^[13-14],而混合盐碱混合胁迫研究较少。本试验研究了红三叶种子萌发和幼苗生长对碱性盐溶液(NaCl、Na₂SO₄、NaHCO₃、Na₂CO₃)胁迫的响应特征及规律,以期对红三叶耐碱盐胁迫的适应能力及机制的进一步研究提供基础依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试红三叶(代号 Z1308)由黑龙江省农业科学院草业研究所提供。Z1308 红三叶为草业所自主培育的新品系,该品系耐寒性极强,适应黑龙江省气候特征。

1.2 方法

1.2.1 碱性盐混合溶液的配制 松嫩盐碱地主要是由两种中性盐 NaCl、Na₂SO₄和两种碱性盐 NaHCO₃和 Na₂CO₃按摩尔比约为 1:9:9:1 的比例组合而成的^[15-16]。因此,试验将这 4 种盐按其摩尔浓度比配成 0 (CK)、40 (T1)、80 (T2)、120 (T3)、160 (T4)、200 (T5) mmol·L⁻¹ 6 种处理的混合溶液。

1.2.2 种子的胁迫处理与发芽 在培养皿内进行红三叶种子的胁迫处理和发芽试验。将籽粒饱满、大小一致、消毒完全(0.1% HgCl₂ 浸泡 10 min,蒸馏水冲洗若干次后用滤纸吸干)的种子置于直径为 9 cm 的玻璃培养皿内(预先铺两层滤纸,每个培养皿内 100 粒种子)。然后加入配置好的处理液 10 mL,每处理 4 次重复。试验开始后每隔 1 d 用加入相同重量的蒸馏水(称重法),使各处理溶液的浓度不变。在恒温 25℃、12 h 黑暗/12 h 光照的培养箱中进行种子发芽。按国际种子检验规程^[17],第 4 天统计发芽势,第 10 天统计发芽率。苗高与根长的测定在发芽试验结束进行,随机选取 10 个幼苗,测量其苗高和根长。

各项指标的计算公式:

发芽率(GR)(%)=(发芽种子总数/供试种子总数)×100

发芽势(GP)(%)=(发芽第 4 天的发芽种子数/供试种子总数)×100

发芽指数(GI)= $\sum Gi/Di$, Gi:第 i 天的发芽率, Di:天数

活力指数(DI)=GI×Ss, Ss:幼苗的平均重量

1.2.3 数据处理 采用 Excel 2010 进行数据统计、分析与制图。

2 结果与分析

2.1 红三叶种子萌发对碱性盐胁迫的响应

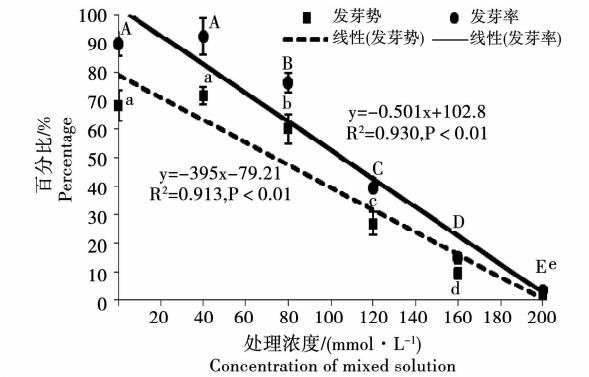
2.1.1 发芽势和发芽率的响应 由图 1 可知,红三叶种子的发芽势和发芽率对碱性盐胁迫的响应规律一致,二者都随着胁迫浓度的增加先增加后降低。胁迫浓度为 40 mmol·L⁻¹时,红三叶种子的发芽势和发芽率略高于 CK,但差异不显著($P>0.05$)。当胁迫浓度达到 80 mmol·L⁻¹后,发芽率和发芽势明显低于 CK($P<0.05$)。红三叶的发芽势、发芽率与混合液浓度的线性方程分别为: $y=-0.395x+79.21$ ($R^2=0.913$, $P<0.01$)和 $y=-0.501x+102.8$ ($R^2=0.930$, $P<0.01$),都为极显著的负相关关系。以相对发芽率为 50% 计算得出红三叶种子发芽的临界碱性盐浓度为 102.2 mmol·L⁻¹。结果表明红三叶在低浓度的碱性盐胁迫时(≤ 40 mmol·L⁻¹)发芽较高,而在高浓度胁迫时(>80 mmol·L⁻¹)发芽显著降低,且浓度越高降低越多。

2.1.2 发芽指数和活力指数的响应 发芽指数能够同时反映出种子的累积发芽率、萌发速度和整齐程度;活力指数是判定植物种间种子活力差异的一个重要指标^[15]。红三叶种子发芽指数和活力指数对碱性盐胁迫的响应规律与发芽率和发芽势相同,二者也是表现出随着胁迫浓度的增加先增加后降低的规律(见图 2,图 3)。发芽指数和活力指数在 40 mmol·L⁻¹时达到最大,浓度达到 80 mmol·L⁻¹后显著降低($P<0.05$)。线性回归分析表明:发芽指数、活力指数与混合液浓度间为极显著的负相关(见图 2,图 3)。

2.2 红三叶幼苗生长对碱性盐胁迫的响应

从表 1 可以看出,幼苗生长 3 个指标对碱性盐胁迫的响应规律相同,碱性盐胁迫后苗高、根长及根冠比都低于对照,除 T1(40 mmol·L⁻¹)处理

之外,其它 4 个胁迫处理都显著低于对照 ($P < 0.05$)。根冠比的响应结果表明碱性盐胁迫抑制红三叶幼苗根的生长要强于苗的生长,当浓度达到 $120 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 后,这种趋势越明显。



图中数据为平均值±标准差,不同大写字母代表发芽势差异显著,不同小写字母代表发芽率差异显著 ($P < 0.05$)。下同。
Dates in the chart mean average ± SE, different capital letters mean significant difference at 0.05 level, different lowercases mean significant difference at 0.05 level.

图 1 发芽率、发芽势对碱性盐胁迫的响应

Fig. 1 Response of germination rate, germination power to the mixed solution

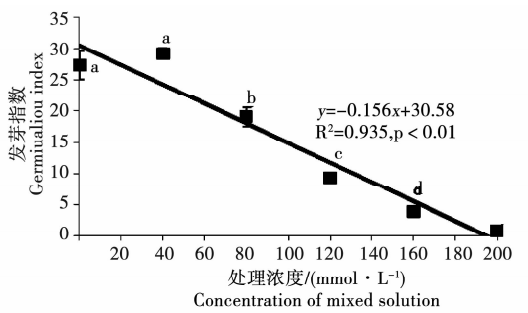


图 2 发芽指数对碱性盐胁迫的响应
Fig. 2 Response of germination index to the mixed solution

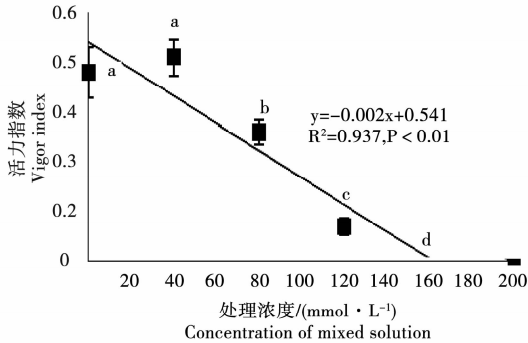


图 3 活力指数对碱性盐胁迫的响应
Fig. 3 Response of vigor index to the mixed solution

表 1 对红三叶种子幼苗生长对碱性盐胁迫的响应
Table 1 The influence of alkaloid -saline stress on seed germination of white clover

| 项目 Items | CK | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 |
|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 苗高/cm Shoot height | 5.25±0.52 A | 5.19±0.52 A | 3.32±0.52 B | 1.57±0.52 C | 0.75±0.52 D | 0.53±0.52 D |
| 根长/cm Root length | 3.44±0.52 A | 3.21±0.52 A | 1.62±0.52 B | 0.58±0.52 C | 0.31±0.52 D | 0.25±0.52 D |
| 根冠比 Root/Shoot | 0.66 A | 0.62 A | 0.48 B | 0.37 C | 0.41 BC | 0.47 B |

表中数据为平均值±标准差,同一行不同大写字母代表差异极显著 ($P < 0.01$)。
Dates in the table mean average ± SE, different capital letters in same line showed significant difference at 0.05 level.

3 结论与讨论

大量的研究已经证实植物对盐碱胁迫最为敏感的时期是其种子萌发和幼苗生长阶段,此阶段影响着植物的生长速度、生物量、营养物质积累及能量代谢等。因此,研究植物种子在盐碱环境下的萌发和幼苗生长情况,是评价植物种耐盐碱耐力的重要指标^[15,16,18]。本试验以红三叶新品系 Z1308 为对象,研究该品系种子萌发指标(发芽率、发芽势、发芽指数和种子活力指数)对不同浓度的碱性盐混合溶液(NaCl 、 Na_2SO_4 、 NaHCO_3 和 Na_2CO_3)胁迫的响应规律,结果显示:4 个指标对碱性盐浓度胁迫的响应规律相同,在低于 $40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 都略高于对照,但差异不显著 ($P > 0.05$),当胁迫浓度达到 $80 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 则显著低于

对照 ($P < 0.05$)。本结果表明低浓度的盐碱胁迫在一定程度上能够促进红三叶种子萌发,高浓度胁迫表现为显著的抑制作用,这与潘多锋^[4]、申忠宝^[15]、毛培春^[17]、韩萌^[19] 等人的研究结果相一致。

在盐碱环境下植物表现出明显的发育减缓现象。Shi 等^[18] 研究表明:盐、碱条件下羊草 (*Leymus chinensis*) 的干物质积累量及叶片扩张速度均受到严重抑制,株高、生物量(地上和地下)降低,并且碱的抑制作用远大于盐。番茄 (*Lycopersicon esculentum* Miller) 在盐环境下的单株鲜重、分枝鲜重、叶片数、根长以及根生物量等都降低,并且随盐度增加显著下降^[20]。本研究的结果显示:盐碱胁迫后红三叶幼苗的苗高、根长及根冠

比均降低,且胁迫浓度越高降低越显著。此外,盐碱胁迫对根的抑制作用更强。

参考文献:

- [1] Peck A J. Development and Reclamation of secondary salinity[R]. University of Queensland Press, 1975, 301-307.
- [2] 牛东玲,王启基. 盐碱地治理研究进展[J]. 土壤通报, 2002, 33(6): 449-455.
- [3] 王佳丽,黄贤金,钟太洋,等. 盐碱地可持续利用研究综述[J]. 地理学报, 2011, 66(5): 673-684.
- [4] 潘多锋,申忠宝,王建丽,等. 碱性盐胁迫对白三叶种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 北方园艺, 2015(14): 67-70.
- [5] 李培英,孙宗玖. 33 份偃麦草种质芽期耐盐性评价[J]. 草业科学, 2015, 32(4): 593-600.
- [6] Sharma B A, Yadav J S P. Removal during leaching and availability of iron and manganese in pyrite and farmyard-manure-treated alkali soil [J]. Soil Sci, 1989, 147(1): 17-22.
- [7] Katerji N, van Hoorn J W, Hamdy A, et al. Salt tolerance classification of crops according to soil salinity and to water stress day index[J]. Agric Water Manag. 2000, 43: 99-109.
- [8] 赵可夫. 植物抗盐生理[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1993: 3-4.
- [9] 王建丽,申忠宝,潘多锋,等. 红三叶种质资源农艺性状的综合评价及聚类分析[J]. 草原与草坪, 2013, 32(3): 33-37.
- [10] 王建丽,申忠宝,潘多锋,等. 红三叶新品种 DUS 测试指南的研制[J]. 北方园艺, 2015(15): 217-220.

- [11] 陈默君,贾慎修. 中国饲用植物[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 38.
- [12] Taylor N L. A century of clover breeding developments in the United States[J]. Crop Science, 2008, 48: 1-13.
- [13] 吴楠,王飞,田治国,等. NaCl 胁迫对变异紫叶三叶草种子萌发及保护酶活性的影响[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2013, 41(2): 1-6.
- [14] 崔英. 三种三叶草的耐盐性和抗寒性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2006: 11-19.
- [15] 申忠宝,潘多锋,王建丽,等. 混合盐碱胁迫对 5 种禾草种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 草地学报, 2012, 20(5): 914-920.
- [16] 尹红娟. 虎尾草对盐碱混合胁迫的生理响应特点[D]. 长春: 东北师范大学, 2008.
- [17] 国际种子检验协会(ISTA). 国际种子检验规程[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 10-11.
- [18] Shi D, Wang D. Effect of various salt-alkaline mixed stress conditions on *Leymus chinensis* (Trin.) [J]. Plant Soil, 2005, 271: 15-26.
- [19] 韩萌,张月学,潘多锋,等. 混合盐碱胁迫对 3 种无芒雀麦种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2012(7): 119-122.
- [20] Mohammad M. Tomato root and shoot responses to salt stress under different levels of phosphorus nutrition. [J]. Plant Nutr. 1998, 21: 1667-1680.

Response of Seed Germination and Seedling Growth of Red Clovers on Alkaloid-Saline Stress

YUAN Guo-qing¹, SHEN Zhong-bao², ZHANG Rui-bo², LI Dao-ming², PAN Duo-feng²,
WANG Jian-li², GAO Chao², LIU Hui-lai²

(1. Crop Seed Management Station of Mingshui Country, Mingshui, Heilongjiang 151700;
2. Institute of Forage and Grassland Sciences, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: Soil salinization and alkalization was a series environmental and ecological problem in Songnen plain. In order to evaluate the tolerance of red clover on saline-alkaloid stress, the response of seed germination and seedling growth of new red clover strain (Z1308) on the saline-alkaloid stress was studied. The results showed that red clover had higher seed germination and seedling growth when stressed by lower saline-alkaloid (concentration was $\leq 40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) compared with CK, but significantly declined when the concentration was exceed $80 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$. There was a clearly negative relationship between germination power, germination rate, germination index, vigor index and concentration of saline-alkaloid solution ($P < 0.01$). The critical value that red clover could germinate by saline-alkaloid stress was $102.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$. The result also indicated that root length was more sensitive to saline-alkaloid stress than shoot height.

Keywords: red clovers; alkaloid-saline; seed germination; seedling growth

(该文作者还有刘慧来,单位同第二作者)