

碱性盐胁迫对白三叶种子萌发及幼苗生长的影响

潘多锋, 申忠宝, 王建丽, 高超, 李道明, 张瑞博

(黑龙江省农业科学院 草业研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘 要:以白三叶新品系‘Z005’为试材,研究了不同浓度(0、20、40、80、120、160、200 mmol/L)碱性盐溶液(NaCl、Na₂SO₄、NaHCO₃和Na₂CO₃)对种子萌发及幼苗生长的影响。结果表明:低浓度胁迫(≤ 20 mmol/L)提高白三叶种子的萌发能力、促进幼苗生长,而高浓度(> 40 mmol/L)则表现为抑制作用。当溶液浓度大于80 mmol/L,发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数、苗高和根长均极显著低于对照($P < 0.01$)。白三叶种子萌发适宜的碱性盐溶液浓度应小于94.50 mmol/L。碱性盐溶液对白三叶根生长的抑制作用强于对苗的抑制作用。

关键词:白三叶;碱性盐胁迫;发芽率;幼苗生长

中图分类号:S 812;S 330 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)14-0067-04

土壤盐碱化是人类面临的重大环境问题之一,也是当前科学界关注的前沿和热点^[1-2]。我国土壤盐碱化问题严重,盐碱化土壤面积达到0.99亿hm²,约占耕地总面积的10%^[3]。松嫩平原是我国苏打盐碱化土壤的最大分布区域,也是世界三大苏打盐碱土集中分布区之一。该区盐碱化土壤总面积约342.0万hm²,其中,苏打盐碱土面积达到230.5万hm²,占盐碱土总面积的70%以上。土壤盐碱化已成为松嫩平原生态经济持续发展的重要限制性因素之一,并且威胁到区域生态环境安全^[4-6]。因此,盐碱化土壤的改良与恢复已经引起各级政府、研究部门的高度重视。种植耐盐碱植物(牧草、草坪草)是改良及利用盐碱土的有效措施,并且能够产生巨大的生态效益和经济效益^[7-8]。

种子萌发和幼苗生长是植物生长发育的2个不同阶段,其生理、生化过程也存在一定的差异。大量的研究表明,温度、水分、光照等外界环境条件对种子萌发和幼苗生长的影响不同,同时二者适应环境条件的机制也不同^[9-10]。KATERJI等^[11-12]在研究主要作物耐盐性分类及评价中指出,在盐胁迫条件下,植物的耐受性不仅

与植物种的自身特性有关外,还与植物种所处的生长发育阶段有着很高的相关性。因此,进行碱性盐胁迫对植物种子萌发及幼苗生长影响的研究,不仅在植物生理生态学方面具有理论意义,而且对植物生产与应用同样具有重要的实际意义。

白三叶(*Trifolium repens* L.)属豆科三叶草属多年生草本植物,其品质优良、营养丰富、适口性好,是一种重要的栽培牧草。白三叶花叶兼优、覆盖力强、株型美观、绿期、花期均长,亦是城市绿化和水土保持的理想植物。我国白三叶种质资源丰富,分布广泛,许多省份都有野生种分布^[13-15]。有关白三叶耐盐性及盐害机理的研究多是以NaCl为主要研究方向^[16-17]。然而,在我国内陆盐碱地中,大部分是以CO₃²⁻、HCO₃⁻、Cl⁻、SO₄²⁻4种阴离子所构成的复合盐碱地^[5]。而对多种阴阳离子碱性盐胁迫的研究报道较少^[18]。该试验将2种中性盐(NaCl、Na₂SO₄)和2种碱性盐(NaHCO₃、Na₂CO₃),按照松嫩平原土壤盐碱特性进行不同比例混合,研究碱性盐胁迫白三叶种子萌发和幼苗生长的影响,以期为进一步研究白三叶对碱性盐胁迫的适应能力及机制奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试白三叶新品系‘Z005’,由黑龙江省农业科学院草业研究所培育而成,其耐寒极强,适应黑龙江省气候特征。

1.2 试验方法

1.2.1 碱性盐溶液的配比 根据松嫩平原盐碱地盐分组成特征,将NaCl、Na₂SO₄、NaHCO₃和Na₂CO₃,按

第一作者简介:潘多锋(1980-),男,宁夏青铜峡人,硕士,助理研究员,现主要从事牧草育种与草地生态等研究工作。E-mail: panduofeng2000@163.com.

责任作者:申忠宝(1973-),男,黑龙江讷河人,硕士,研究员,现主要从事牧草育种和栽培等研究工作。E-mail: shzhbao2@126.com.

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)。

收稿日期:2015-02-02

1:9:9:1 的比例配成不同浓度碱性盐混合溶液^[7-8], 处理浓度分别为 0、20、40、80、120、160、200 mmol/L, 分别

记做 CK、T1、T2、T3、T4、T5、T6。各处理溶液的 pH 值及阴阳离子浓度见表 1。

表 1

碱性盐浓度配比及胁迫因素

Table 1

The ratio of complex alkaloid-saline stress solution and stress factors

碱性盐浓度 Alkaline salt concentration/(mmol·L ⁻¹)	pH 值 pH value	Na ⁺ /(mmol·L ⁻¹)	Cl ⁻ /(mmol·L ⁻¹)	SO ₄ ²⁻ /(mmol·L ⁻¹)	HCO ₃ ⁻ /(mmol·L ⁻¹)	CO ₃ ²⁻ /(mmol·L ⁻¹)
0(CK)	7.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
20(T1)	8.26	30.00	0.64	9.00	0.64	9.00
40(T2)	8.38	60.00	1.28	18.00	1.28	18.00
80(T3)	8.49	120.00	2.56	36.00	2.56	36.00
120(T4)	8.71	180.00	3.84	54.00	3.84	54.00
160(T5)	9.24	240.00	5.12	72.00	5.12	72.00
200(T6)	9.64	300.00	6.40	90.00	6.40	90.00

1.2.2 碱性盐胁迫处理 选取籽粒饱满、大小均匀的白三叶种子进行消毒处理(用 0.1% 的 HgCl₂ 溶液消毒 10 min, 再用蒸馏水冲洗干净, 并用滤纸吸干)。将消毒后的种子放在直径 9 cm 的培养皿内, 培养皿内预先铺 2 层滤纸。每培养皿均匀摆列 100 粒种子, 然后加入 10 mL 碱性盐混合液, 每处理 3 次重复。每天用称重法补相同数量的水分, 以保证各处理溶液浓度恒定。

1.2.3 发芽试验 将培养皿放入 25℃ 培养箱中, 12 h 黑暗/12 h 光照。按白三叶国际种子检验规程规定^[19], 每天记录发芽数。第 4 天统计发芽势, 第 10 天统计发芽率(胚根长达到种子长度的 50%)。发芽试验结束后随机取 10 个幼苗, 测量苗高与根长。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)=Σ(Gi/Di), Gi 为第 i 天的发芽率, Di 为天数; 活力指数(DI)=GI×Ss, Ss 为幼苗的平均重量。

1.3 数据分析

试验数据采用 SPSS 13.0 One-way ANOVA 进行方差分析, Duncan 进行多重比较, 采用 Excel 2007 制图。

2 结果与分析

2.1 碱性盐胁迫对白三叶种子萌发的影响

2.1.1 对发芽势和发芽率的影响 由表 2 可知, 白三叶种子的发芽势和发芽率随着碱性盐溶液浓度的增加呈现出先增加后降低的趋势。在 T1 处理(20 mmol/L)时, 白三叶种子的发芽势和发芽率高于对照(CK), 其它处理均低于对照(CK)。当浓度达到 T3 处理(80 mmol/L)后, 发芽率和发芽势极显著低于对照($P<0.01$), 而浓度为 T6 处理(200 mmol/L)时, 没有种子萌发。该试验结果表明, 低浓度的碱性盐胁迫(≤ 20 mmol/L)能够促进白三叶种子发芽, 而高浓度的碱性盐胁迫(> 20 mmol/L)对白三叶种子发芽有一定的抑制作用, 浓度越高抑制作用越明显。从图 1 可以看出, 白三叶发芽势和发芽率与碱性盐溶液浓度呈极显著的负相关($R^2=0.929, P<0.01$; $R^2=0.958, P<0.01$)。根据图 1 中发芽率与碱性盐溶液浓度的关系方程, 令白三叶相对发芽率(以对照处理

为 100%)为 75%、50%和 25%分别计算出种子发芽碱性盐胁迫浓度的适宜值、临界值和极限值^[20]。白三叶种子萌发碱性盐胁迫浓度的适宜值、临界值和极限值分别为 43.62、94.50、147.36 mmol/L。

表 2 碱性盐胁迫对白三叶种子萌发的影响

Table 2 Effect of alkaloid-saline stress on

seed germination of *Trifolium repens*

处理 Treatment	发芽率 Germination rate /%	发芽势 Germination potential /%	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index
CK	92.33±2.52a	70.33±1.53ab	25.92±0.19ab	0.46ab
T1	93.33±2.52a	75.67±1.53a	28.67±0.33a	0.53a
T2	87.00±1.00ab	66.33±3.21b	25.00±0.38ab	0.45ab
T3	75.00±3.61bc	49.00±1.00c	20.42±0.53b	0.34bc
T4	52.33±2.08c	31.33±2.52c	13.11±0.43c	0.20c
T5	4.33±0.58d	2.33±0.58d	1.26±0.10d	0.02d
T6	0e	0e	0e	0e

注:表中数据为平均值±标准差, 同列不同字母代表差异极显著($P<0.01$)。

Note: Dates in the table were mean±SE, different lowercase letters in same column show significant differences at 0.01 level.

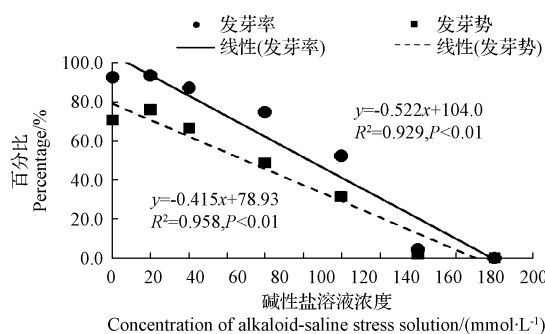


图 1 发芽率、发芽势与碱性盐溶液浓度间的线性关系

Fig. 1 Linear relation between germination rate, germination potential and concentration of mixed solution

2.1.2 对发芽指数和活力指数的影响 发芽指数不仅能够反映种子累积的发芽率, 还可体现出种子的萌发速度和整齐程度。植物发芽指数越高, 其种子萌发速度越快、越整齐。活力指数是反映种子活力差异的一个直观指标, 体现种子是否生长和生长整齐度^[7,20]。与发芽率和发芽势的变化一样, 发芽指数和活力指数也是随着碱

性盐溶液浓度的增加呈现出先增加后降低的趋势,在 T1 处理时达到最大值。当碱性盐溶液浓度 >80 mmol/L, 发芽指数和活力指数极显著低于对照($P<0.01$, 表 2)。图 2 相关分析表明发芽指数、活力指数与碱性盐溶液浓度存在极显著的负相关。

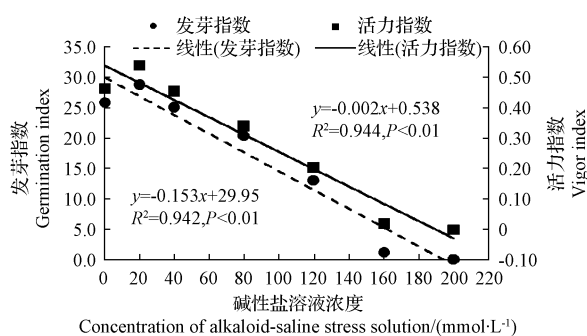
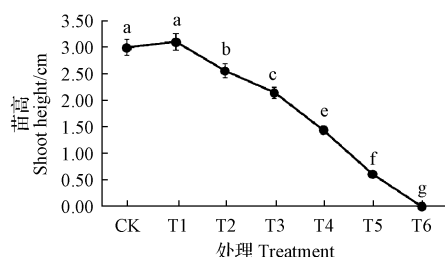


图 2 发芽指数、活力指数与碱性盐溶液浓度间的线性关系

Fig. 2 Linear relation between germination index, vigor index and concentration of mixed solution

2.2 碱性盐胁迫对白三叶幼苗生长的影响

从图 3、4 可以看出,碱性盐胁迫对白三叶幼苗根和苗的生长都产生明显地抑制作用,碱性盐胁迫对根长和苗高的抑制规律一致,表现为随胁迫浓度的提高先增加后降低,浓度大于 20 mmol/L 后极显著低于对照($P<$



注:不同字母代表差异极显著($P<0.01$),下同。

Note: Different lowercase letters show significant differences at 0.01 level, the same below.

图 3 碱性盐胁迫对白三叶苗高的影响

Fig. 3 Effect of alkaloid-saline stress on shoot height of *Trifolium repens*

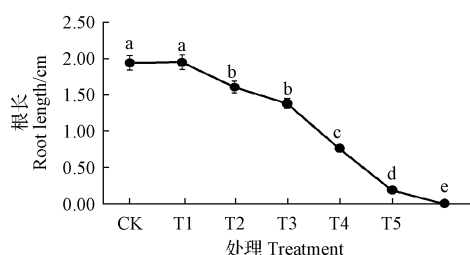


图 4 碱性盐胁迫对白三叶根长的影响

Fig. 4 Effect of alkaloid-saline stress on root length of *Trifolium repens*

0.01)。200 mmol/L 碱性盐胁迫后,白三叶幼苗无法长出正常的根和苗。

由图 5 可知,碱性盐胁迫后根冠比均小于对照,说明胁迫对白三叶根的抑制作用强于对幼苗的抑制作用,而浓度达到 120 mmol/L 后,这种抑制作用越明显。

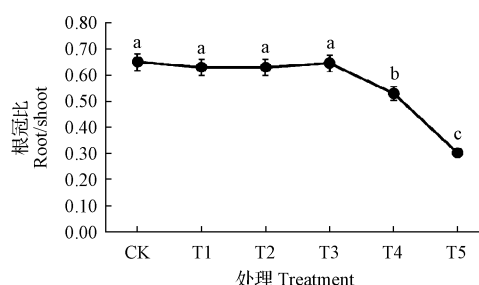


图 5 碱性盐胁迫对白三叶幼苗根冠比的影响

Fig. 5 Effect of alkaloid-saline stress on root-shoot ratio of *Trifolium repens*

3 讨论与结论

盐胁迫对植物不同生育期的影响不同,而种子萌发期和幼苗生长是最受盐碱危害的重要阶段,决定着植物的生长速率、光合产量以及生物量的积累等^[20-21]。在种子萌发阶段,盐胁迫影响植物细胞的正常生长代谢过程,抑制种子萌发、胚根、胚芽生长和长势等^[22-23]。植物种子能够在盐碱环境中萌发出苗,是植物在盐碱条件下生长发育的前提^[7,10]。该试验结果表明,低浓度胁迫下(≤ 20 mmol/L)白三叶种子的发芽率、发芽势、发芽指数和种子活力指数均高于对照,高浓度(≥ 40 mmol/L)低于对照,这与申忠宝等^[7]、吴海涛等^[17]、韩萌等^[20]的研究结果相一致。低浓度的碱性盐胁迫促进白三叶种子萌发,可能是因为在低浓度条件下,白三叶细胞膜的渗透调节增强,或是微量的无机 Na^+ 对叶肉细胞中的呼吸酶产生了一定刺激作用^[19];高浓度碱性盐胁迫抑制种子萌发可能是由于渗透胁迫抑制种子萌发过程中水分的吸收,致使组织和细胞自由水含量降低,导致代谢缓慢,萌发延迟^[24-25]。

当植物处于盐碱胁迫时会产生明显的发育迟缓。MOHAMMAD^[26]研究证实,番茄在盐胁迫后其叶片、生物量鲜重和干重明显减少,而且分枝鲜重、单株鲜重、叶片数、叶面积、根长以及根生物量等随盐度增加显著下降。刘杰等^[10]发现,随盐碱胁迫强度的增强,向日葵的叶面积、相对生长率、幼苗地上、地下部分干、鲜重、幼苗叶片光合色素均下降。SHI 等^[27]在羊草(*Leymus chinensis*)的研究表明,盐、碱胁迫均严重抑制羊草的物质积累及叶片扩张,但后者的作用远大于前者,二者差距随生长时间的延长而越来越大。该试验结果表明,处理浓度为 20 mmol/L 时白三叶的苗高和根长均大于对照,但根冠

比小于对照;浓度大于 20 mmol/L 时苗高和根长均小于对照,表明低浓度的碱性盐溶液对白三叶幼苗生长有一定的促进作用,而高浓度表现为抑制作用,对根的抑制作用更明显。

参考文献

- [1] TANJI K K. Agricultural salinity assessment and management[M]. New York: American Society of Civil Engineers, 1990: 1-112.
- [2] 徐恒刚. 中国盐生植被及盐渍化生态治理[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004: 1.
- [3] 俞仁培, 陈德明. 我国盐渍土资源及其开发利用[J]. 土壤通报, 1999, 30(4): 158-159.
- [4] 宋长春, 何岩, 邓伟. 松嫩平原盐渍土壤生态地球化学[M]. 北京: 科学出版社, 2003: 64-90.
- [5] 刘兴土. 松嫩平原退化土地整治与农业发展[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 60-135.
- [6] 李取生, 裘善文, 邓伟. 松嫩平原土地次生盐渍化研究[J]. 地理科学, 1998, 18(3): 268-272.
- [7] 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.
- [8] 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: 7.
- [9] THOMPSON D I, EDWARDS T J, van STADEN J. A novel dual-phase culture medium promotes germination and seedling establishment from immature embryos in South African *Disa* (Orchidaceae) species[J]. Plant Growth Regul, 2007, 53: 163-171.
- [10] 刘杰, 张美丽, 张义, 等. 人工模拟盐、碱环境对向日葵种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 作物学报, 2008, 34(10): 1818-1825.
- [11] 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.
- [12] KATERJI N, van HOORN J W, HAMDY A, et al. Salt tolerance of crops according to three classification methods and examination of some hypothesis about salt tolerance[J]. Agric Water Manag, 2001, 47: 1-8.
- [13] 王建丽, 申忠宝, 高洪文, 等. 21 份白三叶种质资源的农艺性状比较研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2012(10): 73-75.
- [14] 赵桂琴, 王锁民, 任继周. 白三叶转基因及其生态适应性研究进展[J]. 生态学报, 2004, 24(3): 592-598.
- [15] 张鹤山, 陈明新, 田宏, 等. 高温胁迫下白三叶种子萌发特性及耐热性研究[J]. 种子, 2010, 29(8): 1-5.
- [16] 贾文庆, 刘会超, 何莉. 盐分胁迫下白三叶种子的发芽特性研究[J]. 草业科学, 2007, 24(9): 55-57.
- [17] 吴海涛, 刘芳, 赵丹, 等. 盐胁迫对三种白三叶种子萌发的影响[J]. 四川畜牧兽医, 2008(8): 35-38.
- [18] 殷秀杰, 燕昌江, 李凤兰, 等. 混合盐碱胁迫对白三叶种子萌发的影响[J]. 东北农业大学学报, 2009, 40(12): 58-61.
- [19] 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: 4-9.
- [20] 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.
- [21] XU X Y, FAN R, ZHANG R, et al. Proteomic analysis of seed germination under salt stress in soybeans[J]. Journal of Zhejiang University Science B: Biomedicine and Biotechnology, 2011, 12(7): 507-517.
- [22] CHERIAN S, REDDY M P, PANDYA J B. Studies on salt tolerance in *Avicennia marina* (Forst. k.) Vierh: effect of NaCl salinity on growth, ion accumulation and enzyme activity[J]. Plant Physiol, 1999, 4: 266-270.
- [23] 卢敏敏, 苏长青, 李会芬. 不同盐胁迫对白三叶种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 草业学报, 2013, 22(4): 123-129.
- [24] RUBIO A E, CASTILLO J M, LUQUE C J, et al. Influence of salinity on germination and seeds viability of two primary colonizers of Mediterranean salt pans[J]. J Arid Environ, 2003, 53: 145-154.
- [25] 杨春武, 贾娜尔·阿汗, 石德成, 等. 复杂盐碱条件对星星草种子萌发的影响[J]. 草业学报, 2006, 15(5): 45-51.
- [26] MOHAMMAD M. Tomato root and shoot responses to salt stress under different levels of phosphorus nutrition[J]. Plant Nutr, 1998, 21: 1667-1680.
- [27] SHI D, WANG D. Effect of various salt-alkaline mixed stress conditions on *Leymus chinensis* (Trin.) [J]. Plant Soil, 2005, 271: 15-26.

Effect of Alkaloid-saline Stress on the Seed Germination and Seedling Growth of *Trifolium repens*

PAN Duofeng, SHEN Zhongbao, WANG Jianli, GAO Chao, LI Daoming, ZHANG Rui bo

(Institute of Forage and Grassland Sciences, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: Taking *Trifolium repens* new strain ('Z005') as material, the effect of different concentration (0, 20, 40, 80, 120, 160, 200 mmol/L) saline-alkaloid (NaCl, Na₂SO₄, NaHCO₃, Na₂CO₃) stress on the seed germination and seedling growth of *Trifolium repens* new strain ('Z005') were studied. The results showed that low concentration of saline-alkaloid stress (concentration was ≤ 20 mmol/L) could improve seed germination ability and seedling growth of *Trifolium repens*, contrastly, high concentration decreased seed germination and seedling growth. When the concentration was exceed 80 mmol/L, germination rate, germination potential, germination index, vigor index, root length and shoot height were significantly lower compared with control ($P < 0.01$). Seed of *Trifolium repens* could germinate under the condition that the concentration of saline-alkaloid below 94.50 mmol/L. And saline-alkaloid stress had a higher inhibition to root length than shoot height.

Keywords: *Trifolium repens*; alkaloid-saline stress; germination rate; seedling growth