

盐生植物大穗结缕草种子萌发特性及其对盐旱胁迫的响应

赵丽萍^{1,2}, 姚志刚¹, 谢文军², 刘俊华¹

(1. 山东省黄河三角洲野生植物资源开发利用工程技术研究中心, 山东 滨州 256600;

2. 山东滨州学院 生物工程学院, 山东 滨州 256603)

摘 要:以大穗结缕草为试材,研究了光照/黑暗、温度、盐胁迫和干旱胁迫对大穗结缕草种子萌发特性的影响。结果表明:种子萌发为非需光种子,种子萌发最适温度范围为25~30℃;当NaCl浓度为100 mmol·L⁻¹时,大穗结缕草种子最终萌发率与对照无显著差异,但种子发芽势和活力指数与对照有明显差异。当浓度为150~200 mmol·L⁻¹时,显著抑制大穗结缕草种子的萌发。种子耐盐临界浓度和极限浓度分别为144.12、244.12 mmol·L⁻¹;随着干旱胁迫程度的增加,萌发进程所用时间增长,最终萌发率也显著下降,50 g·L⁻¹ PEG模拟干旱胁迫对种子萌发无显著影响,种子的耐旱临界浓度和极限浓度分别为90.95、155.05 g·L⁻¹。综上所述,大穗结缕草种子在萌发期表现出一定的抗盐性和抗旱性。

关键词:大穗结缕草;种子萌发特性;盐旱胁迫

中图分类号:S 551⁺.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)19-0098-06

大穗结缕草(*Zoysia macrostachya* Franchet, Sav.)属禾本科虎耳草亚科结缕草属多年生低矮草本植物,又名江茅草,区别于同属其它种的特征是其花序基部有叶鞘包被^[1],因果穗和种子均较一般结缕草大而得名。大穗结缕草在中国主要

分布在辽宁、山东及江浙等地沿海海拔0.5~2.0 m的潮沟两侧,常在滨海盐土带形成海滩原生群落,所在生境土壤pH 8.5~9.5^[2-3],其耐盐能力强,属盐生植物^[4]。

大穗结缕草具有发达的根茎,能形成结构良好、富有弹性的草坪,适用于足球场、高尔夫球场等运动场草坪的建植,随着次生盐渍化土壤的增多以及盐碱地区草坪建植的需要,人们对耐盐草坪草的需求日益增长,大穗结缕草具有的天然抗盐性受到人们的青睐,将会成为盐碱地区建植草坪的优良草种选择。

第一作者简介:赵丽萍(1979-),女,山东广饶人,本科,副教授,现主要从事植物资源与抗逆生理研究工作。
E-mail:zhaoliping_bz@163.com

基金项目:山东省自然科学基金资助项目(ZR2010CL010);滨州学院科研基金资助项目(BZXYL1001)。

收稿日期:2017-04-05

Abstract: *Taraxacum koksaghyz* was used as the experimental material, effects of different plant growth regulators on adventitious bud differentiation and rooting in tissue culture seedlings of *Taraxacum koksaghyz* were studied. The results showed that effects of different plant growth regulators were significantly different. The best culture medium of differentiation of adventitious buds was MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹. And NAA was significant for the root induction of *Taraxacum koksaghyz*. The best culture medium of rooting was 1/2MS+NAA 0.2 mg·L⁻¹.

Keywords: *Taraxacum koksaghyz*; tissue culture; adventitious bud differentiation

作为禾本科草坪草资源,野生大穗结缕草群落落在山东主要分布在黄河三角洲贝壳堤岛以及青岛沿海,尤其在黄河三角洲贝壳堤岛环境中,生长适应性好,形成良好的地被覆盖。但是多年调查发现,自然条件下群落缩减,退化严重。大穗结缕草的繁殖可以通过根状茎无性繁殖和种子有性繁殖,在没有形成规模草坪场的条件下,最有效的繁殖方法是种子繁殖。但大穗结缕草种子同结缕草属其它种一样,具有很强的休眠性,在自然条件下的发芽率较低,石东里等^[5-6]研究了其种子打破休眠技术,并对其萌发期耐盐能力进行了试验,利用 20% 氢氧化钠处理 25 min 效果最好。但对于大穗结缕草种子特征及种子萌发期的萌发特性尚鲜见报道,该研究对大穗结缕草繁殖过程中种子特性进行了记录并测定了其生活力,并利用人工模拟胁迫的方法,研究光照/黑暗、温度、盐、干旱条件对大穗结缕草种子萌发特性的影响,旨在找出大穗结缕草的最佳萌发条件,为大穗结缕草的草坪规模化栽培提供一定的参考依据,使其作为盐碱地绿化草种的价值得到更大的开发利用和重视,也为耐盐草种的选择和栽培提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试大穗结缕草种子于 2014 年 10—11 月采自山东无棣县旺子岛。

1.2 试验方法

试验前种子用 0.1% 高锰酸钾消毒 10 min,再用 20% NaOH 处理 25 min 解除休眠。种子萌发试验在直径 9 cm、垫有 3 层滤纸的培养皿中进行。首先进行光照和温度试验,筛选大穗结缕草种子萌发的最适温光条件,在此条件下再进行盐和干旱胁迫试验。光照试验选择黑暗和光照 2 个对照,温度试验选用 15、20、25、30、35 °C 5 个梯度进行,盐胁迫试验选用 0、50、100、200、300 mmol · L⁻¹ NaCl 共 5 个浓度梯度,干旱胁迫选用 0、50、100、150、200 g · L⁻¹ PEG-6000 浓度梯度。

1.3 项目测定

每天定时观察种子的发芽情况,种子萌发以胚根露出种皮 2 mm 为标准^[7],每 24 h 统计 1 次,

直至连续 3 次种子萌发数不再改变,种子萌发试验结束。统计每个培养皿中种子的发芽数,每天测量发芽种子的胚芽、胚根长。用游标卡尺和电子天平分别测得裸种子和带颖壳种子的长、宽、厚及千粒质量。

活种子的百分率(%) = 胚部染成红色的种子数/供试种子数 × 100; 最终发芽率(%) = 已发芽种子数/供试种子数 × 100; 发芽势(%) = 3 d 发芽种子数/供试种子数 × 100; 发芽指数(Gi) = $\sum(Gt/Dt)$ (Gt 为在时间 t 日发芽数, Dt 相应的发芽日数); 活力指数(Vi) = $G_i \times S_t$ (Gi 为发芽指数, St 为第 t 天种子的平均胚根长); 平均发芽时间(d) = $\sum(Gt \times Dt) / \sum Gt$ (Gt 为 t 日的发芽数, Dt 相应的发芽日数)。

第 3 天计算发芽势,第 7 天测定最终发芽率、发芽指数、活力指数、平均发芽时间。

1.4 数据分析

所得数据处理统计分析,Excel 软件绘图,发芽率通过 95% 水平上单因子方差(One-Way ANOVA)检验。

2 结果与分析

2.1 大穗结缕草种子生物学特性

野外调查结果发现,分布于山东黄河三角洲地区的大穗结缕草种子于 6—7 月成熟,成熟的果序不脱落,一直到 11—12 月脱落。一个果序包含 10~15 粒颖果,种子(颖果)个体较小,外包颖壳,与结缕草属其它种比较,大穗结缕草种子长而宽,个体较大,是其典型特征,因此极易区分。

由表 1 可以看出,大穗结缕草裸种子长度仅占带颖壳种子的 34% 左右,而质量占 63% 左右,体视解剖镜下观察,颖壳表面光滑致密,坚硬,没有外力不能与种子分离,说明颖壳对于大穗结缕草种子来说,一方面能够起到保护作用,但其致密性也可能对其进一步萌发具有很大限制作用。体视解剖镜下观察,裸种子(去除颖壳)透明或半透明,胚位于果实的一侧角上,长度约占种子的 1/2~3/5,颜色较深,与胚乳界限较明显。利用四唑氮蓝法测定种子活力为 85%。

表 1
Table 1
大穗结缕草种子特征
Seed characteristics of *Zoysia macrostachya*

种类 Kind	长 Length/cm	宽 Width/cm	厚 Thickness/cm	千粒质量 Thousand-grain weight/g
裸种子 Naked seeds	1.844±0.128	0.904±0.048	0.580±0.048	0.680±0.002
带颖壳种子 Seeds enclosed with glumes	5.384±0.498	1.312±0.079	0.650±0.056	1.081±0.019

2.2 光照和黑暗条件对大穗结缕草种子萌发的影响

由表 2 可知,黑暗条件下大穗结缕草种子的最终发芽率、发芽势、发芽指数均低于光照条件下各项指标,黑暗条件下平均发芽时间也长于光照

条件下平均发芽时间,黑暗条件下的活力指数却高于光照条件下指标,但 2 组不同条件下各项指标差异均不显著,表明大穗结缕草种子在萌发阶段对光不敏感,属于非需光型,如此会增加大穗结缕草种子被埋藏在土壤之下仍然能够正常萌发的可能性。

表 2
Table 2
光照和黑暗条件对大穗结缕草种子萌发指标的影响
Effects of light/dark on seed germination of *Zoysia macrostachya*

	最终发芽率 Final germination rate/%	发芽势 Germination energy/%	发芽指数 Germination index	活力指数 Vitality index	平均发芽时间 Mean germination time/d
光照条件 Illumination condition	76.7±0.10a	46.7±0.10a	16.34±1.8a	41.83±4.60a	3.2±0.22a
黑暗条件 Dark condition	70.0±0.18a	41.7±0.18a	14.99±0.3a	43.17±2.77a	3.4±0.08a
组间差异 Difference between groups	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$	$P>0.05$

2.3 不同温度对大穗结缕草种子萌发的影响

由图 1 及表 3 可知,低温(15℃)条件下,大穗结缕草种子各项萌发指标均低于其它温度,表明低温条件不适宜其种子的萌发。中温(20~25℃)条件下,虽然其萌发进程变慢,但 25℃条件下萌发率可达到最高水平(70%),20℃下种子在第 3 天的发芽指数、发芽活力及第 3 天的发芽势都低于 25℃温度下的各项指标,且差异显著($P<0.05$);较高温度(30~35℃)下,大穗结缕草种子萌发时间明显提前,但随着时间的推移,20℃和 25℃条件下种子的发芽率逐渐升高并超过 30℃和 35℃条件下种子的发芽率,25℃时种子的发芽率最高。当温度为 35℃时,种子的活力指数明显下降,与 25℃相比差异显著($P<0.05$),表

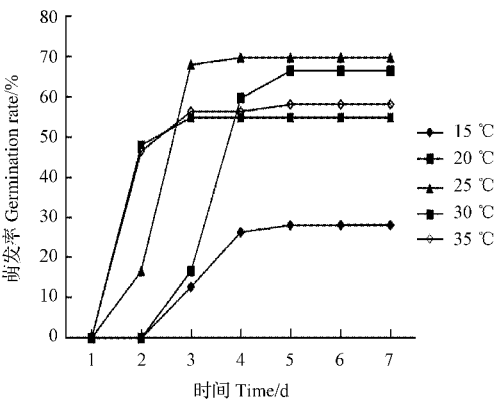


图 1 不同温度对大穗结缕草种子萌发的影响

Fig. 1 Effects of different temperatures on seed germination of *Zoysia macrostachya*

表 3
Table 3
不同温度条件对大穗结缕草种子萌发指标的影响
Effects of different temperatures on seed germination of *Zoysia macrostachya*

温度 Temperature/℃	最终发芽率 Final germination rate/%	发芽势 Germination energy/%	发芽指数 Germination index	活力指数 Vitality index	平均发芽时间 Mean germination time/d
15	28.3±0.03c	6.7±0.03d	3.36±0.56c	2.91±2.40c	5.2±0.28a
20	66.7±0.14ab	16.7±0.03c	10.90±2.10b	16.32±3.00b	3.8±0.12b
25	70.0±0.13a	68.3±0.13a	16.86±3.99a	45.79±4.70a	2.8±0.22bc
30	66.7±0.08ab	66.7±0.08a	18.90±2.15a	47.89±5.46a	2.1±0.18c
35	61.7±0.08b	56.7±0.15b	17.56±4.26a	15.09±3.66b	2.3±0.25c

明种子在高温下,种子活力受到影响。由此可知,适宜的高温有利于大穗结缕草种子的萌发,但温度不宜过高,25~30℃是大穗结缕草适宜的萌发温度。

2.4 不同干旱胁迫对大穗结缕草种子萌发的影响

由图 2 可知,用不同浓度的 PEG-6000 模拟干旱条件胁迫大穗结缕草种子时,随着时间的变化,种子的发芽率均低于对照,说明干旱对于大穗结缕草种子萌发来说,是一项限制因子。由表 4 可知,PEG 浓度为 50 g·L⁻¹ 时,种子发芽各项指标与对照差异不显著,随着 PEG 浓度的增加,最终发芽率呈逐渐下降的趋势,150 g·L⁻¹ 和 200 g·L⁻¹ 条件下种子的各项发芽指标与对照相比,差异显著($P<0.05$)。当干旱胁迫浓度为 100 g·L⁻¹ 时,最终萌发率、发芽势、发芽指数、活力指数分别比对照下降了 40.1%、52.9%、47.5%、73.1%,平均发芽时间也明显延长,活力指数下降最多,与对照差异显著($P<0.01$),说明 100 g·L⁻¹ PEG 模拟浓度对于大穗结缕草种子来说,已经造成吸水困难,使种子活力大大下降。进一步分析表明,

PEG 浓度和大穗结缕草种子的最终萌发率呈负相关($y=-0.003\ 9x+0.854\ 7, R^2=0.954\ 3$),其中, x 为 PEG 浓度, y 为种子萌发率。当种子萌发率分别为 50% 和 25% 时,所对应的盐浓度为 大穗结缕草种子萌发的临界值和极限值^[8],得出大穗结缕草种子萌发的耐干旱临界值和极限值分别为 90.95、155.05 g·L⁻¹。

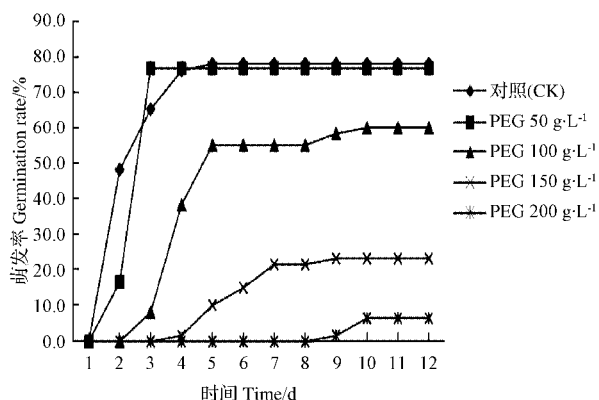


图 2 不同模拟干旱条件对大穗结缕草种子萌发进程的影响

Fig. 2 Effects of drought stress on seed germination process of *Zoysia macrostachya*

表 4 不同干旱条件对大穗结缕草种子萌发指标的影响

Table 4 Effects of different drought treatments on seed germination of *Zoysia macrostachya*

PEG 浓度 PEG concentration/(g·L ⁻¹)	最终发芽率 Final germination rate/%	发芽势 Germination energy/%	发芽指数 Germination index	活力指数 Vitality index	平均发芽时间 Mean germination time/d
0	78.0±0.10a	78.0±0.10a	21.85±1.80a	69.65±5.65a	2.6±0.13d
50	76.7±0.10a	76.7±0.10a	26.25±2.20a	60.37±4.50a	2.9±0.64d
100	46.7±0.03b	36.7±0.06b	11.48±1.20b	18.76±2.00b	4.0±0.66c
150	23.3±0.06c	3.3±0.03c	4.03±1.04c	3.52±1.50c	5.3±0.80b
200	6.7±0.03d	0.0±0.00d	0.40±0.22d	0.05±0.03d	9.8±0.45a

2.5 不同盐浓度对大穗结缕草种子萌发的影响

由图 3 可知,各盐浓度处理的大穗结缕草种子随着时间的延长发芽率都在增大,其中,200~300 mmol·L⁻¹ 盐浓度明显阻碍了大穗结缕草种子的萌发进程。由表 5 可知,50 mmol·L⁻¹ 盐浓度处理种子的各项发芽指标与对照基本相同,无显著差异($P<0.05$),说明低浓度的盐溶液不会阻碍大穗结缕草种子的萌发。100 mmol·L⁻¹ 盐浓度处理的种子,最终发芽率与对照无差异,但是

其第 3 天的发芽势明显低于对照,活力指数和发芽指数也明显低于对照,差异显著($P<0.05$),说明此浓度的盐溶液对于大穗结缕草的萌发起到了延滞作用,虽然可以萌发,但幼苗中弱苗多。进一步分析,盐浓度和大穗结缕草种子的最终萌发率呈负相关($y=-0.002\ 5x+0.860\ 3, R^2=0.943\ 5$),其中, x 为 NaCl 浓度, y 为种子萌发率,大穗结缕草种子萌发的耐盐临界值和极限值分别为 144.12、244.12 mmol·L⁻¹。

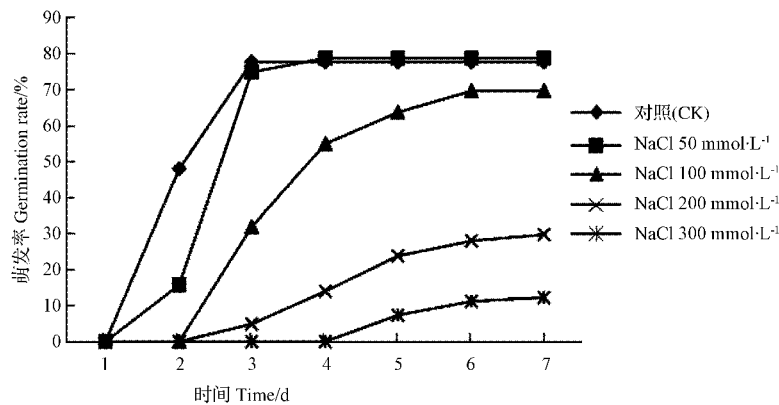


图3 盐胁迫对大穗结缕草种子萌发的影响

Fig. 3 Effects of salt stress on seed germination of *Zoysia macrostachya*

表 5

不同盐处理对大穗结缕草种子萌发的影响

Table 5

Effects of different salt treatments on seed germination of *Zoysia macrostachya*

NaCl 浓度 NaCl concentration/(mmol · L ⁻¹)	最终发芽率 Final germination rate/%	发芽势 Germination energy/%	发芽指数 Germination index	活力指数 Vitality index	平均发芽时间 Mean germination time/d
0	78.0±0.10a	78.0±0.10a	21.85±1.80a	69.65±5.65a	2.6±0.13c
50	79.0±0.07a	75.0±0.04a	20.63±1.90a	61.74±5.60a	2.9±0.43bc
100	70.0±0.08a	32.0±0.08b	11.78±1.74b	29.91±4.41b	3.3±0.90b
200	21.3±0.04b	5.0±0.05c	3.78±1.18c	4.81±1.50c	4.5±0.55ab
300	10.0±0.06c	0.0±0.00d	1.03±0.66d	0.31±0.16d	5.4±1.00a

3 讨论

影响种子萌发的外部生态环境主要有光照、温度、氧气、土壤条件等方面。相对于其它生活史阶段,植物种子在萌发阶段对环境胁迫的抗性和耐性更弱^[9],决定着植物能不能够定居。因此植物萌发阶段对环境的适应性研究更为关键。大穗结缕草种子天然外面包被颖壳,使之即使适宜条件也难以萌发。但种子的萌发活力可达85%,经过去休眠处理(20% NaOH 处理 25 min)后的种子发芽试验,大穗结缕草种子的活力为70%~80%^[5]。

种子发芽时对光的反应不同,大部分农作物种子的萌发对光照要求不严格,对大穗结缕草种子进行光照和黑暗试验,结果表明,大穗结缕草种子的萌发对光不敏感,保证了大穗结缕草种子即使埋藏于土壤中也同样能够进行萌发的可能性。

温度是影响种子萌发的重要因素之一,试验结果表明,大穗结缕草在20~35℃均能萌发,25~30℃较适宜大穗结缕草种子的萌发,是

其最适发芽温度,发芽率均在60%以上,温度过低则不利于种子的萌发,这也与大穗结缕草属于暖季型草坪草种相符。在大穗结缕草开发利用作为草坪草地区,应必须考虑温度条件,适地种植。

土壤中的水分和盐分同样影响种子的萌发,且二者几乎同时影响种子的萌发。张晨妮等^[10]曾用PEG-6000对老芒麦萌发期的抗旱性进行过研究,结果发现,PEG对种子的发芽率、发芽势、发芽指数均有不同程度的影响,随着PEG浓度的增加,7种老芒麦牧草种子的发芽率、发芽势、发芽指数均呈下降的趋势,但不同的老芒麦种质材料的抗旱性强弱有所不同。该试验在水分胁迫对大穗结缕草种子萌发的研究中发现,随着PEG浓度的增大,大穗结缕草种子的发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数等均呈下降趋势,可见,水分对大穗结缕草种子的萌发具有很大的影响。石东里等^[5]曾对大穗结缕草种子萌发期的耐盐性进行过研究,结果表明0.4% NaCl以下的低盐浓度对种子的萌发具有促进作用,随着盐浓度的进一步增大,种子的发芽率则急剧降低,当NaCl盐浓度高

于 1.0% 时,大穗结缕草种子则不能萌发。该试验通过研究 NaCl 胁迫下大穗结缕草的萌发特性,结果发现,随着 NaCl 浓度的增大,大穗结缕草种子的发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数等均呈下降趋势,平均发芽时间明显延长。大穗结缕草种子在 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($0.5\% \sim 0.6\%$ NaCl 浓度)盐浓度处理下,最终发芽率仍能达到 70%,说明大穗结缕草种子具有较强的耐盐性。这一研究结果与石东里等^[6]研究的低盐浓度(0.4%左右)促进种子的萌发的结果基本相同。

总之,对于大穗结缕草种子,种子萌发对光不敏感,种子萌发适宜温度在 $25 \sim 30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。大穗结缕草属于盐生植物,盐和干旱胁迫对种子的萌发虽然都有一定的抑制作用,但在盐浓度 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和干旱条件($50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)下种子仍能进行萌发,其忍受盐和干旱的临界浓度分别为 $144.12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $90.95 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,在一定程度上反映了大穗结缕草种子对盐碱和干旱生境具有适应性,可以作为盐碱地区铺设草坪的选择草种。

参考文献

- [1] 董厚德,宫莉君. 中国结缕草生态学及其资源开发与应用[M]. 北京:中国林业出版社,2001.
- [2] 刘建秀,刘永东,贺善安. 中国暖季型草坪草物种多样性及其地理分布特点[J]. 草地学报,1998,6(1):45-52.
- [3] 王艳,张绵,张学勇,等. 大穗和中华结缕草的群落特征及种内分异研究[J]. 植物研究,2001,21(2):278-284.
- [4] 赵可夫,李法曾. 中国盐生植物[M]. 北京:科学出版社,1999.
- [5] 石东里,赵丽萍,姚志刚. 大穗结缕草种子打破休眠的处理技术研究[J]. 安徽农业科学,2007(35):11384-11385.
- [6] 石东里,赵丽萍,姚志刚. 大穗结缕草萌发期耐盐能力试验[J]. 湖北农业科学,2007,46(5):782-783.
- [7] 朱翠华. 结缕草种子生活力的测定法[J]. 种子,1999(1):19-20,25.
- [8] 段德玉,刘小京,冯凤莲,等. 盐分和水分胁迫对盐生植物灰绿藜种子萌发的影响[J]. 植物资源与环境学报,2004,13(1):7-11.
- [9] 张学勇,陈忠林,刘强,等. 盐胁迫对结缕草和高羊茅种子萌发的影响[J]. 种子,2012,31(9):4-7.
- [10] 张晨妮,周青平,颜红波,等. PEG-6000 对老芒麦种质材料萌发期抗旱性影响的研究[J]. 草业科学,2010,27(1):119-123.

Seed Germination Characteristics of *Zoysia macrostachya* Franchet. Sav. and the Response to Salt and Drought Stress

ZHAO Liping^{1,2}, YAO Zhigang¹, XIE Wenjun², LIU Junhua¹

(1. Shandong Provincial Engineering and Technology Research Center for Wild Plant Resources Development and Application of Yellow River Delta, Binzhou, Shandong 256600; 2. School of Bioengineering, Binzhou University, Binzhou, Shandong 256603)

Abstract: The effects of different light/dark, temperature, salt stress and drought stress on seed germination characteristics of *Zoysia macrostachya* Franchet. Sav. were studied in this research. The results showed that the germination of *Zoysia macrostachya* Franchet. Sav. had no strict requirement for light and dark and the seed germination temperature ranged between $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ and $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$. There was no significant effect on seed germination when the NaCl concentration was of $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$. It was significantly inhibited the seed germination when the NaCl concentration was of $150 \sim 200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$. The critical and limit concentration of salt tolerant(NaCl) in *Zoysia macrostachya* Franchet. Sav. seed were $144.12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ and $244.12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$. With the degree of drought stress increasing, the time spent to complete germination process and the final germination rate decreased significantly. $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ PEG stress had no significant effect on seed germination rate; while under condition of $150 \sim 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ PEG stress, the final seed germination rate had a significant downward trend. The critical and limit concentration of drought tolerant(PEG) were $90.95 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ and $155.05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Seeds of *Zoysia macrostachya* Franchet. Sav. showed a great salt tolerance and drought tolerance at germination stage.

Keywords: *Zoysia macrostachya* Franchet. Sav. ; seed germination characteristics; salt and drought stress