

氯化钠模拟盐胁迫对沙冬青种子萌发和幼苗生长的影响

张 娇, 张大治, 马 艳, 李迎运

(宁夏大学 生命科学学院, 宁夏 银川 750021)

摘 要:以沙冬青种子为试材,采用恒温培养法研究了不同浓度 NaCl(10、20、30、40、50、60、70、80、90、100 mmol/L)对沙冬青种子萌发及幼苗生长的影响,并观察了萌发恢复率。结果表明:在 NaCl 模拟盐胁迫下,沙冬青种子萌发率与 NaCl 浓度呈极显著负相关($R^2=0.9602$),NaCl 浓度低于 30 mmol/L 时,对沙冬青种子的萌发影响较小,其中 10 mmol/L NaCl 能提高沙冬青种子萌发率,而高于 80 mmol/L 浓度的 NaCl 对种子萌发、幼苗鲜重和胚根生长均产生抑制作用。沙冬青幼苗根长、地上部分鲜重、根鲜重以及根冠比随 NaCl 浓度的增加呈下降趋势;可溶性糖含量、脯氨酸含量、保护性酶(POD、SOD)活性随 NaCl 浓度的增加表现为先增加后降低趋势;种子浸提液丙二醛(MDA)含量和 CAT 活性随 NaCl 浓度的增加逐渐上升;幼苗根系活力(TTC)与 NaCl 溶液浓度呈单峰曲线,在 30 mmol/L 出现峰值。解除胁迫条件,不同 NaCl 处理沙冬青种子复水萌发率平均达 15.8%,复 200 mg/L 赤霉素萌发率平均达 23.1%。综合来看,沙冬青种子恢复萌发率与 NaCl 浓度之间呈极显著负相关,表明一定浓度盐胁迫下沙冬青种子仍具有较高的萌发潜力和抗盐特性,但过高浓度的 NaCl 导致沙冬青种子失活。

关键词:沙冬青;氯化钠(NaCl);盐胁迫;种子萌发;幼苗生长

中图分类号:S 793.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)14-0065-08

土壤盐碱化日益严重^[1-2],植物盐胁迫及抗盐生理研究引起了众多学者的关注^[1-3],在盐渍环境下植物种子萌发和幼苗生长是其生活史的关键阶段^[4-6],此过程对盐胁迫的响应反映了其适应环境的生态机制^[4-7],不同盐生植物种子萌发耐盐碱能力相差甚大,并且很难根据盐碱环境中植株生长情况来判断种子在萌发阶段的耐盐性,从种子萌发到幼苗生长是植物生活史中的脆弱阶段^[4-6,8],如果能够渡过这个阶段,植物忍受不利环境因素能力和对环境适应力将会大幅提高^[9-10]。

沙冬青(*Ammopiptanthus mongolicus*)是亚洲中部荒漠地区唯一的常绿阔叶灌木,抗盐碱性很强^[11-12],为进一步检验沙冬青耐盐潜力,有必要对种子萌发和幼苗生长过程中耐盐特性进行深入研究。现以沙冬青种子为试材,研究不同浓度 NaCl 模拟盐胁迫对种子萌发和幼苗生长各项指标的影响,比较分析了复蒸馏水和赤霉素缓解盐胁迫对沙冬青种子萌发的影响,进而探讨沙冬青对盐渍化环境的耐受性潜力^[13-14],以期系统研究沙冬

青种子萌发阶段耐旱性特征并揭示其抗旱机理^[15],为进一步扩大栽培和合理利用植物资源提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试沙冬青种子于 2012 年采集自宁夏银川,千粒重为(53.2±2.3)g。选取健壮饱满、完好无损的种子,先用 65%的酒精消毒 20 min,然后依次用自来水和蒸馏水洗净,浸泡 100℃水 8 min 后,蒸馏水洗净冷却降温,放置 24 h 后进行不同浓度 NaCl 溶液胁迫处理。

1.2 试验方法

选取上述预处理后均匀、大小一致沙冬青种子,整齐排列在铺有 3 层滤纸的培养皿中(发芽床),每个培养皿 100 粒。室温下(25℃)以不同浓度的 NaCl 溶液(10、20、30、40、50、60、70、80、90、100 mmol/L)模拟盐胁迫,对照(CK)采用去离子水培养,每个浓度梯度设置 3 组重复,每天定时(20:00)向培养皿中补充相应处理溶液保持滤纸的相对湿润,每 3 d 更换 1 次滤纸。在每天控制光照时间 8:00~18:00,光照强度 3 000 lx,恒温 25℃,相对湿度 75%~80%的条件下培养。

连续培养观察逐日记录种子萌发数目,以胚根的出现为标志,其后移除已萌发种子,并测定沙冬青种子最终萌发率及幼苗地上部分和根鲜重、根冠比(R/S),萌发 9 d 后将 NaCl 处理未发芽的种子分别经蒸馏水和

第一作者简介:张娇(1989-),女,硕士研究生,研究方向为景观生态学。E-mail:zhangjiaonature@163.com.

责任作者:张大治(1970-),男,博士,教授,现主要从事动物系统学及生态学研究。E-mail:zdz313@nxu.edu.cn.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31160435)。

收稿日期:2014-03-31

200 mg/L 赤霉素处理,每天观察并记录 2 种处理下种子萌发恢复情况。

1.3 项目测定

采用愈创木酚法测定幼苗叶片过氧化物酶(POD)活性;硫代巴比妥酸(TBA)法测定幼苗叶片的丙二醛(MDA)含量;四氮唑法测定幼苗根系活力(TTC);相对电导率法测定细胞膜透性;氮蓝四唑(NBT)光还原法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性;过氧化氢分解法测定过氧化氢酶(CAT)活性;蒽酮法测定可溶性糖含量;磺基水杨酸法测定脯氨酸含量^[8,14]。萌发率(%)=种子发芽数/供试种子数×100%。萌发恢复率(%)=[(A-B)/(C-B)]×100%。式中,A 为全部时间的发芽种子数,B 为 NaCl 溶液中的发芽种子数,C 为试验用该处理全部种子数。

1.4 数据分析

采用 Excel 2003 软件进行数据统计,SPSS 18.0 软件对种子萌发和幼苗生长的各项指标进行单因素方差分析(One-way ANOVA),在置信水平 95%和 99%采用 LSD 多重比较法检验其差异显著性,试验结果中的所有数据均以平均值±标准差表示,Origin 7.5 作图。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫对沙冬青种子萌发的影响

在 NaCl 胁迫条件下,测定种子萌发率,能够探索植物忍受胁迫的极限和对环境的适应性。由图 1(右)可知,不同浓度 NaCl 处理对沙冬青种子萌发率的影响不同,随 NaCl 浓度的升高,沙冬青种子萌发率呈明显的下降趋势,并且受到不同程度的抑制,尤其从 40 mmol/L 以后较为明显,而 10~30 mmol/L NaCl 提高了沙冬青种子的萌发率,10~30 mmol/L NaCl 处理的沙冬青种子与对

照无明显差异;当 NaCl 浓度高于 40 mmol/L 时,沙冬青种子萌发率急剧下降,且明显低于对照,NaCl 浓度达到 80 mmol/L 以上种子基本不萌发,80~100 mmol/L 以下沙冬青种子萌发率差异并不显著并且趋于相等;不同浓度 NaCl 与种子萌发率之间的线性回归表明,沙冬青种子萌发率与 NaCl 浓度呈极显著的负相关($P<0.001$),相关系数达到 0.9748。有研究认为,在盐分胁迫过程中,种子萌发率下降到 50%和 25%时,所对应的渗透势分别为种子萌发的临界值和极限值^[8,15]。根据该试验结果可以认为,沙冬青种子对 NaCl 胁迫下的临界值和极限值分别为 40、100 mmol/L,其中 10~30 mmol/L NaCl 胁迫有利于沙冬青种子的萌发。

NaCl 胁迫除了能够降低沙冬青种子的萌发率和萌发速率外,还延缓了种子的初始萌发时间。从图 1(左)可知,10~30 mmol/L NaCl 胁迫处理的沙冬青种子萌发时间最短,在以后的几天种子萌发率基本与对照相一致,40 mmol/L NaCl 胁迫处理的沙冬青种子 3 d 后才开始萌发,以后几天的萌发率非常低,由此可见,40 mmol/L NaCl 胁迫降低了沙冬青种子的初始萌发时间,当 NaCl 溶液浓度达到 80 mmol/L 以上对沙冬青种子萌发基本上起到了完全抑制的作用。由图 1(左)的变化趋势可知,沙冬青种子从第 3 天以后萌发增长率开始上升,第 7 天基本平稳。在种子萌发前期(2~7 d)随着萌发天数的增加,种子萌发速率逐渐减小,第 7 天以后随着萌发天数的增加,种子萌发速率逐渐减小,且低浓度 NaCl 比高浓度 NaCl 种子萌发高峰期出现的早。综合来看,10~30 mmol/L 区间沙冬青种子萌发随 NaCl 浓度的增加变幅较大,说明 10~30 mmol/L 是沙冬青种子在 NaCl 胁迫下萌发的敏感区间。

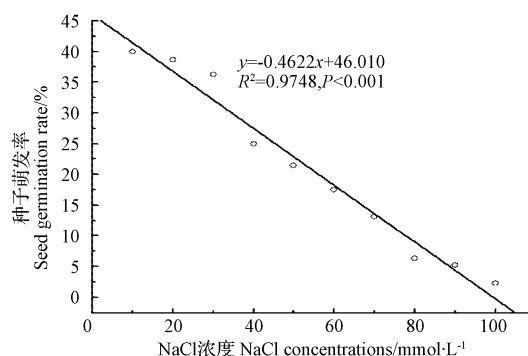
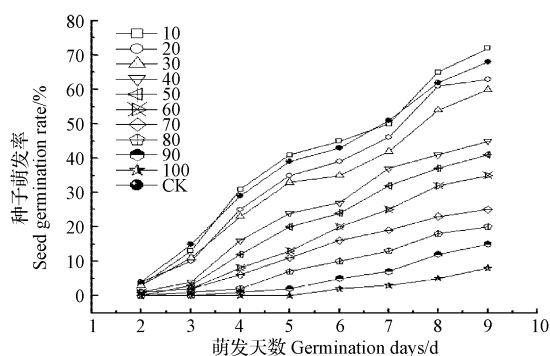


图 1 NaCl 胁迫对沙冬青种子萌发的影响

Fig. 1 Effect of NaCl stress on seed germination of *Ammopiptanthus mongolicus*

2.2 NaCl 胁迫对沙冬青幼苗生长的影响

种子萌发过程中,主要通过胚根从外界吸收水分进行物质交换,盐胁迫对沙冬青幼苗根长及鲜重(地上部分和根部)的影响可以反映植物的抗逆性。在不同浓度 NaCl 处理下,沙冬青幼苗地上部鲜重、根鲜重、根冠比和

根长随 NaCl 浓度的增加均呈下降趋势,但下降幅度不同,并且 10~30 mmol/L 地上部鲜重、根鲜重、根冠比和根长与对照基本持平并无明显差异。由图 2(A)可知,当 NaCl 浓度高于 30 mmol/L 时,沙冬青幼苗根长与对照相比均表现为急剧下降,当 NaCl 浓度在 40~

70 mmol/L时,沙冬青幼苗根长显著低于对照($P < 0.05$),当 NaCl 浓度在 80~100 mmol/L 时,沙冬青幼苗根长极显著低于对照($P < 0.01$);由图 2(B)可知,当 NaCl 浓度在 80~100 mmol/L 时,沙冬青幼苗根鲜重显著低于对照($P < 0.05$);由图 2(C)可知,沙冬青幼苗地上部分鲜重与根鲜重变化规律一致;由图 2(D)可知,当

NaCl 浓度在 70~100 mmol/L 时,沙冬青幼苗根冠比(R/S)显著低于对照($P < 0.05$)。整体来看,NaCl 溶液对沙冬青幼苗地上部鲜重、根鲜重、R/S 和根长的影响表现为低促高抑,与 NaCl 浓度呈极显著负相关关系($P < 0.001$),这可能与种子萌发过程中离子的积累有关。

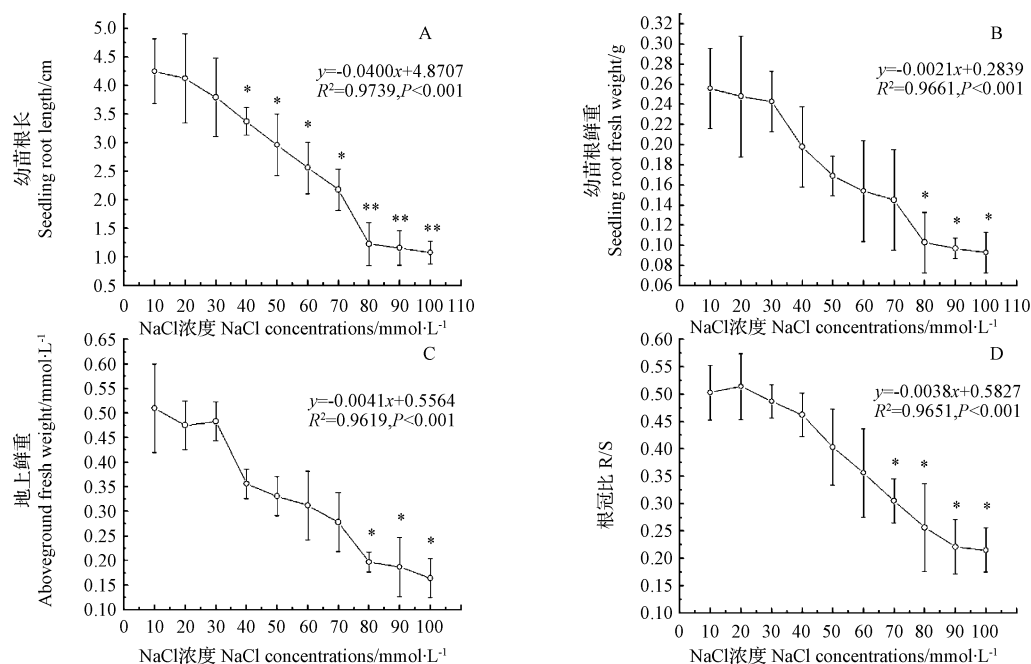


图 2 NaCl 胁迫对沙冬青种子幼苗的影响

注: *, **, *** 分别表示与对照在 0.05 和 0.01 水平上差异显著,下同。

Fig. 2 Effect of NaCl stress on seedling growth of *Ammopiptanthus mongolicus*

Note: *, **, *** indicated significant different between check at level of 0.05 and 0.01, respectively. The same below.

2.3 NaCl 胁迫对沙冬青幼苗可溶性糖含量和脯氨酸含量的影响

可溶性糖作为种子的呼吸底物,种子萌发过程中,呼吸底物消耗,可溶性糖含量下降;呼吸作用加强,可溶性糖含量上升。由图 3(左)可知,沙冬青幼苗的可溶性糖含量随 NaCl 浓度的增加呈单峰曲线,在 NaCl 浓度为 40 mmol/L 时,种子的可溶性糖含量最高(9.12 mg/g),为对照的 1.40 倍;当 NaCl 浓度为 10~70 mmol/L 时,各处理可溶性糖含量均高于对照,而 NaCl 浓度为 80~100 mmol/L 时,各处理可溶性糖含量均明显低于对照,NaCl 浓度为 80 mmol/L 时,可溶性糖含量显著低于对照($P < 0.05$),NaCl 浓度为 90、100 mmol/L 时,可溶性糖含量极显著低于对照($P < 0.01$),以维持体内的渗透压,表明低浓度的 NaCl 能促进种子内部的贮藏多糖向可溶性糖的转化并加速糖异生过程。

脯氨酸含量的提高是逆境条件下植物的自卫反应之一,细胞脯氨酸含量增加,维持了细胞的膨压,同时可以保护酶和膜系统免受毒害^[16]。由图 3(右)可知,沙

冬青幼苗脯氨酸含量随 NaCl 浓度的变化趋势与可溶性糖含量一致,当 NaCl 浓度在 10~40 mmol/L 时,随 NaCl 浓度的增加沙冬青种子中脯氨酸含量逐渐升高,NaCl 浓度在 40 mmol/L 时,沙冬青幼苗内脯氨酸含量最高(42.6 $\mu\text{g/g}$),为对照的 1.10 倍,NaCl 浓度在 30~50 mmol/L 时,幼苗内脯氨酸含量均高于对照,表明 30~50 mmol/L 的 NaCl 可以刺激幼苗脯氨酸含量显著增加,当 NaCl 浓度达到 50 mmol/L 以后,幼苗内脯氨酸含量迅速下降,并且均与对照之间差异显著($P < 0.05$),NaCl 浓度为 80~100 mmol/L 时,脯氨酸含量极显著低于对照($P < 0.01$)。表明当 NaCl 浓度达到一定程度时会导致植物体内游离脯氨酸的积累,进行渗透调节,以适应水分胁迫环境。在该试验中,浓度在 10~40 mmol/L 时含量急剧上升,表明芽苗出现了适应干旱胁迫的渗透调节反应,NaCl 浓度在 30~50 mmol/L 时有利于种子萌发后的生长,NaCl 浓度 80~100 mmol/L 抑制生长对种子产生了较为严重的胁迫作用。

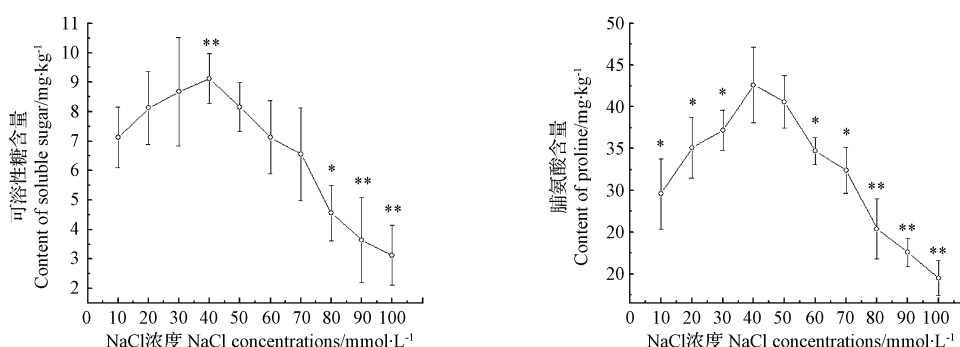


图3 NaCl胁迫对沙冬青幼苗可溶性糖含量和脯氨酸含量的影响

Fig. 3 Effect of NaCl stress on the content of soluble sugar and proline of *Ammopiptanthus mongolicus*

2.4 NaCl胁迫对沙冬青幼苗过氧化物酶活性、超氧化物歧化酶活性和过氧化氢酶活性的影响

SOD的主要功能是清除氧自由基,其对防止细胞膜系统伤害是一种很重要的抗氧化酶。由表1可知,NaCl胁迫对沙冬青幼苗SOD活性的影响整体呈先上升后急剧下降趋势。NaCl浓度为10~80 mmol/L时,幼苗SOD活性随着NaCl浓度的增加而增大,均高于对照,与对照相比分别增加了10.59%、13.59%、21.49%、24.02%、62.98%、64.93%、89.72%、103.17%。NaCl浓度为90~100 mmol/L时,幼苗SOD活性急剧下降,均与对照差异显著($P < 0.05$),说明此时沙冬青幼苗抗性减弱,严重胁迫则抑制了其活性。

POD在植物体内主要作用之一就是催化 H_2O_2 降解。NaCl胁迫对沙冬青幼苗POD活性的影响与对SOD活性影响一致。除NaCl浓度20~40 mmol/L与对照差异不显著外,其它处理差异显著($P < 0.05$),NaCl浓度为30 mmol/L时,沙冬青幼苗POD活性最高(258.34 U/g),与对照相比上升了7.93%,除了20、40 mmol/L浓度NaCl处理外,幼苗POD活性均明显低于对照($P < 0.05$),其中NaCl浓度为40~100 mmol/L时,幼苗POD活性呈急剧下降趋势,与对照相比,分别下降了2.41%、16.92%、30.03%、48.38%、58.95%、62.58%、68.52%,而NaCl浓度为10~30 mmol/L时,幼苗POD活性随NaCl浓度的增加逐步升高,表明沙冬青幼苗POD活性对盐胁迫较为敏感,在轻微的盐胁迫下就能诱导POD活性达到高峰。

CAT活性随NaCl浓度的增加而增加,种子吸胀过程中,生理活动恢复加强,不可避免地体内生物大分子蛋白质、核酸和脂类等起反应且产生破坏其结构和功能的 H_2O_2 等自由基,CAT可把 H_2O_2 分解为 H_2O 和 O_2 ,以清除 H_2O_2 的毒害作用。现在普遍认为植物受到环境胁迫后,保护酶活性下降,而该试验发现在NaCl盐胁迫下沙冬青幼苗CAT活性均明显高于对照,质量浓度为100 mmol/L时CAT活性最高(41.20 mg/g),为对

照的3.33倍,除了10 mmol/L浓度NaCl处理外,其不同浓度NaCl处理均与对照差异显著($P < 0.05$)。表明随NaCl浓度的增加引起种子代谢紊乱、造成无氧呼吸上升、大量消耗贮藏物质,使得CAT活性升高。

表1 NaCl胁迫对沙冬青幼苗POD活性、SOD活性和CAT活性的影响

Table 1 Effect of NaCl stress on the activity of POD, SOD and CAT of *Ammopiptanthus mongolicus*

NaCl 浓度 NaCl concentrations /mmol · L ⁻¹	超氧化物歧化酶活性 SOD activity /U · g ⁻¹	过氧化物酶活性 POD activity /U · g ⁻¹	过氧化氢酶活性 CAT activity /mg · g ⁻¹
10	81.35 ± 2.85 cd	209.48 ± 4.96 b	14.63 ± 0.98 ef
20	83.56 ± 1.98 cd	223.14 ± 3.78 ab	17.69 ± 1.07 e
30	89.37 ± 3.46 c	258.34 ± 3.98 a	19.13 ± 0.85 e
40	91.23 ± 4.78 c	233.58 ± 5.21 a	24.47 ± 1.75 d
50	119.89 ± 2.13 b	198.87 ± 2.13 b	29.65 ± 0.75 cd
60	121.32 ± 3.96 b	167.47 ± 1.98 c	25.35 ± 1.57 d
70	139.56 ± 4.13 a	123.56 ± 3.45 d	33.81 ± 1.26 c
80	149.45 ± 3.94 a	98.25 ± 2.98 e	36.72 ± 0.96 b
90	85.31 ± 2.15 c	89.56 ± 4.56 ef	39.93 ± 0.78 a
100	69.41 ± 3.13 e	75.35 ± 1.75 f	41.20 ± 2.31 a
0 (CK)	73.56 ± 1.69 d	239.36 ± 3.69 a	12.37 ± 1.02 f

注:同列不同字母表示差异显著, $P < 0.05$ 。

Note: The different letters in same line indicate significant difference at the 0.05 level.

2.5 NaCl胁迫对沙冬青种子电导率和丙二醛含量的影响

由图4(左)可知,沙冬青种子浸提液电导率随NaCl浓度的增加呈显著下降,相比于对照,分别下降了10.56%、30.72%、32.29%、38.75%、49.79%、65.73%、75.66%、76.30%、76.75%、77.16%,种子浸提液电导率与NaCl浓度呈极显著的负相关关系($P < 0.001$)。NaCl浓度在10~30 mmol/L时电导率与对照无显著差异($P > 0.05$),当NaCl浓度超过30 mmol/L以后,电导率急剧下降,且均与对照显著差异($P < 0.05$),NaCl浓度为70~100 mmol/L时,种子浸提液电导率差异不显著($P > 0.05$)。

种子电导率高低反映了种子细胞膜完整性好坏,用NaCl处理种子能使细胞膜完整性得到一定修复,减少营

养物质外渗,表现为种子浸提液的电导率降低,该试验沙冬青种子浸提液电导率随着 NaCl 浓度的增加呈显著下降,说明 NaCl 改变了沙冬青种子细胞膜结构,增加了营养物质外渗,其结果表现为种子浸提液的电导率明显增加,从而在一定程度上增加了种子活力。由于种子内部的反应和外膜破裂,更多的可溶物质渗出,同时随 NaCl 浓度的增加,种子浸提液的电导率明显降低,说明 NaCl 种膜有一定的修复作用,高浓度处理下对膜的保护和修复作用可能也正是对催芽产生轻微抑制的原因。

丙二醛(MDA)是膜脂氧化的最终产物,其含量的高低代表膜脂过氧化作用的程度,可以反映植物遭受逆境伤害的程度,已被证明 MDA 的积累来自不饱和脂肪酸的降解,它是由体内自由基引发而产生的。因此,MDA 的积累在一定程度上反映了体内自由基的活动状态,MDA 积累多,说明超氧阴离子与羟基自由基处于较高水平。图 4(右)显示了沙冬青种子浸提液 MDA 含量随 NaCl 浓度的增加呈显著上升,相比于对照,分别上升

了 26.67%、90.00%、113.33%、140.00%、153.33%、153.33%、180.00%、193.33%、213.33%、220.00%,种子浸提液 MDA 含量与 NaCl 浓度呈极显著的正相关关系($P<0.001$)。当 NaCl 浓度在 10 mmol/L 时,与对照差异不显著($P>0.05$),10 mmol/L 以后 MDA 含量随着 NaCl 浓度的增加呈显著上升,且均与对照呈显著差异($P<0.05$),当 NaCl 浓度为 20~60 mmol/L 时,MDA 含量随着 NaCl 浓度的增加呈平缓的上升,说明沙冬青种子对盐胁迫较为敏感,而轻微质量浓度就已经开始出现不适,但总的来说 MDA 含量的增幅不大,表明其受到伤害程度较小,当 NaCl 浓度为 70~100 mmol/L 时,种子浸提液 MDA 含量间差异不显著($P>0.05$),此时沙冬青种子受到严重伤害,也可能是因为种子随着时间延长受到病菌侵染霉变,内部毒害物质上升所致。以上研究表明 NaCl 处理能降低膜脂过氧化反应,有利于膜系统损伤的修复。

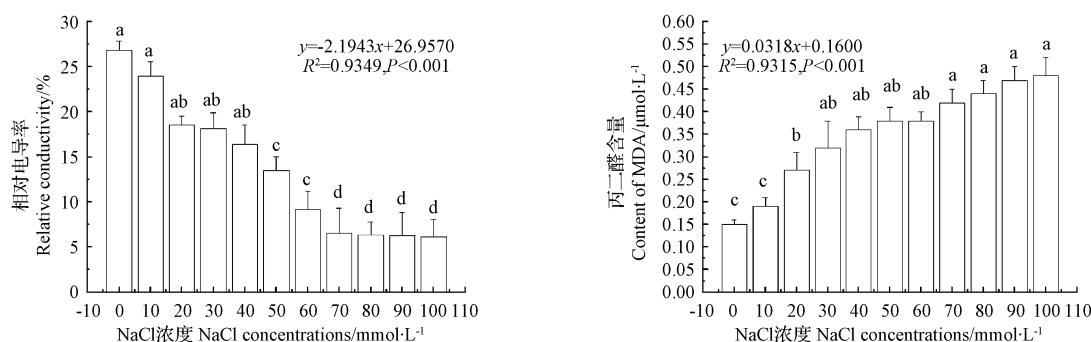


图 4 NaCl 胁迫对沙冬青幼苗相对电导率和丙二醛含量的影响

注:不同字母表示差异显著, $P<0.05$,下同。

Fig. 4 Effect of NaCl stress on relative conductivity and MDA content of *Ammopiptanthus mongolicus*

Note: The different letters indicate significant difference at the 0.05 level. The same below.

2.6 NaCl 胁迫对沙冬青幼苗根系活力的影响

沙冬青幼苗根系活力(TTC)降低表明脱氢酶的活性降低,在酶的作用下,种子中大量的淀粉、脂肪、蛋白质水解提供幼苗生长需要的物质和能源,物质转化率越高对幼苗生长越有利,并可以提高成苗率和幼苗的抗逆性,脱氢酶作为体现还原能力的指标表征种子内部的反应和化学变化,由图 5 可知,不同浓度的 NaCl 溶液对沙冬青幼苗 TTC 有不同程度的抑制作用,沙冬青种子 TTC 随 NaCl 浓度的增加呈先增加后显著下降趋势,相比于对照,分别下降了 10.56%、30.72%、32.29%、38.75%、49.79%、65.73%、75.66%、76.30%、76.75%、77.16%,并且与 NaCl 浓度呈极显著的负相关关系($P<0.001$),且随 NaCl 浓度的升高,抑制作用愈强,当 NaCl 溶液浓度在 0~50 mmol/L 变化时,随 NaCl 浓度的增加沙冬青幼苗 TTC 活性呈单峰曲线;浓度在 20~50 mmol/L 时,幼苗 TTC 活性急剧下降;当 NaCl 浓度由

50 mmol/L 增加到 80 mmol/L 时,幼苗根系活力呈缓慢下降趋势。说明 NaCl 处理的沙冬青种子内部反应更为剧烈,其物质和能源的转化率要低于对照,从而在一定范围内降低了种子的成苗率和抗逆性。

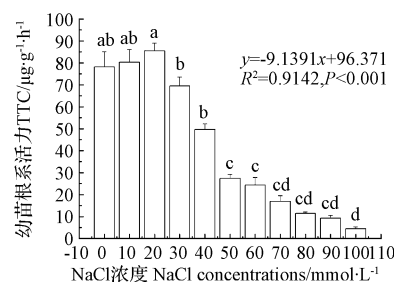


图 5 NaCl 胁迫对沙冬青幼苗根系活力的影响

Fig. 5 Effect of NaCl stress on TTC of

Ammopiptanthus mongolicus

2.7 NaCl 胁迫复水和 200 mg/L 赤霉素处理后沙冬青种子恢复萌发率

虽然 NaCl 对沙冬青种子萌发具有较高的抑制作用,但复水后各浓度 NaCl 处理的种子仍具有较高的恢复萌发率。从种子恢复萌发的速率来看,沙冬青种子萌发 9 d 后,将未萌发种子转至蒸馏水中后 24 h 内开始萌发,种子萌发恢复率在第 3 天达到高峰时期,第 3 天以后种子萌发恢复率逐渐减小。由图 6 可知,复水后沙冬青种子平均萌发率均在 15.8%,复 200 mg/L 赤霉素沙冬青种子平均萌发率在 23.1%,在 10% 的 NaCl 溶液中沙冬青种子相对萌发率达到了 87.9%,表明一定浓度的 NaCl 溶液只是暂时性地抑制了沙冬青种子的萌发,仍然保持较高的萌发潜力,当盐胁迫解除以后,沙冬青种子就能迅速萌发,且萌发时间极大的降低。蒸馏水中恢复萌发后,各浓度 NaCl 处理种子的恢复萌发率与 NaCl 浓度呈显著的负相关关系($R^2=0.9797, P<0.001$)。

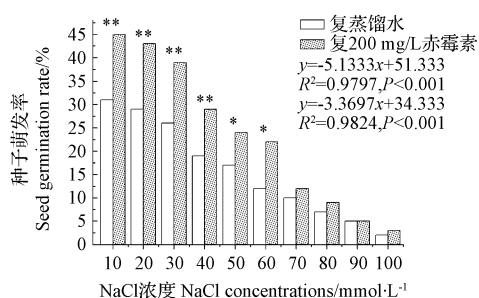


图 6 复水和 200 mg/L 赤霉素处理后沙冬青种子恢复萌发率

Fig. 6 Seeds recovery germination of *Ammopiptanthus mongolicus* after complexed distilled water and 200 mg/L gibberellin

同等条件下,沙冬青种子萌发 9 d 后,将未萌发种子转至 200 mg/L 赤霉素中 12 h 开始萌发,第 2 天其恢复萌发速率达到最大,相对于复蒸馏水,其萌发时间大大缩减,恢复萌发率也相对提高。由图 6 可知,经 200 mg/L 赤霉素恢复萌发后,各浓度 NaCl 处理种子的恢复萌发率与 NaCl 浓度呈显著的负相关关系($R^2=0.9824, P<0.001$)。NaCl 浓度在 10~40 mmol/L 时,复 200 mg/L 赤霉素极显著高于复蒸馏水后的种子萌发率($P<0.01$),NaCl 浓度在 40~60 mmol/L 时,复 200 mg/L 赤霉素显著高于复蒸馏水后的种子萌发率($P<0.05$),NaCl 浓度达到 70 mmol/L 以上时,沙冬青种子恢复萌发率与复蒸馏水后一致,二者并没有明显差异($P>0.05$),说明 70 mmol/L 以上浓度 NaCl 处理使沙冬青种子部分失去活性,而赤霉素则不能刺激这部分种子恢复萌发。说明沙冬青种子经历一定时期的逆境条件后仍具有较强的恢复萌发潜力,当条件适宜时种子能够恢复萌发,但 NaCl 浓度过高导致种子失活,由此,二者的恢

复萌发率基本相等,且没有明显差异($P>0.05$)。

3 讨论与结论

在沙冬青种子萌发阶段,盐浓度决定了其水势进而决定了种子吸水,成为影响种子萌发的关键因素^[9,11-14,17]。整体来看,NaCl 对沙冬青种子萌发和幼苗生长均具有明显的抑制作用,并且与盐浓度之间呈显著负相关关系($P<0.001$),高浓度 NaCl 胁迫还推迟了种子的初始萌发时间。试验表明沙冬青种子萌发最好是在 10~30 mmol/L 的 NaCl 溶液中,有学者认为在一定胁迫条件下种子萌发可能存在某些耐胁迫基因(或特异生理机制)^[18-19],也有学者认为高盐胁迫抑制种子萌发,主要是由外界高渗透压导致种子吸水不足引起的^[20]。在沙冬青种子萌发阶段,盐胁迫表现为渗透胁迫,随 NaCl 浓度的增加沙冬青种子水势下降,细胞内外水势差也随之减小,呼吸作用受到抑制,表现为萌发率较低^[21-22]。该研究发现,沙冬青种子萌发率随 NaCl 浓度的增加呈下降趋势,低浓度盐胁迫对种子萌发具有促进作用,这与大部分学者的研究结果一致^[23-24],但与马闯等^[8]研究结果相反,可能是不同物种之间存在巨大的差异,而高浓度 NaCl 胁迫下,种子各种酶活性的降低可能是导致萌发率下降的重要原因之一^[25-29]。

高盐浓度胁迫下沙冬青种子不但萌发率极低,而且延缓了种子发芽时间,低盐浓度下恰恰相反,不但发芽率较高,也大大缩短了发芽时间,可能是由于 NaCl 胁迫导致种子产生浅度休眠^[30-32],这样可避免在高盐条件下植株大规模死亡,在低盐浓度下环境相对适宜,种子迅速萌发以免除环境变化带来的负面效应^[31]。对于沙冬青幼苗生长阶段,适宜浓度(10~30 mmol/L)的 NaCl 能促进地上部分鲜重、根鲜重、根冠比(R/S)和根长,增加可溶性糖和脯氨酸等渗透调节物质(图 3),提高保护性酶 SOD、POD、CAT 活性,修复膜系统损伤,从而提高了其抗盐碱能力。该试验中 POD 活性和 SOD 活性先上升后下降,可能由于低浓度 NaCl 能激发保护酶活性保护沙冬青幼苗不受伤害,而高浓度 NaCl 胁迫下各种酶活性急剧降低,表明在盐胁迫下虽然保护酶活性加强,但其调节能力依然有限,MDA 含量在低浓度 NaCl 胁迫下缓慢上升,高浓度 NaCl 胁迫下急剧上升,与根系活力变化趋势不一致,这可能是 NaCl 胁迫通过抑制、清除内源活性氧酶的活性,导致活性氧的积累和膜脂过氧化加剧,MDA 含量增加,致使与 NaCl 直接接触的根系细胞膜受到伤害,根系活力下降^[10,27,33]。从而证实了 NaCl 胁迫能够引起某些保护酶活性下降,减弱机体清除自由基能力,同时显著增加 MDA 含量,造成植株生理代谢紊乱,最终导致其受到伤害等^[10,27-28,31,34]。

在 NaCl 模拟盐胁迫前期,低浓度的 NaCl 对沙冬青种子萌发产生了一定的刺激效应,10~30 mmol/L 的

NaCl 处理沙冬青种子的萌发率和幼苗生长各项指标均明显高于对照,在此浓度范围内,细胞中离子转运蛋白和各种离子通道蛋白可以参与盐胁迫下的细胞离子稳态重建,提高植物的耐盐能力^[8,10],此外,种子还能启动体内一系列保护机制,减少吸胀过程中膜系统的损伤,有利于提高种子萌发率^[27-28,35];而超过阈值以后种子内活性氧的损伤作用表现较为强烈,萌发率也急剧下降,对种子的萌发起了胁迫作用,这与焦树英等^[36]的研究结果一致,初步表明了一定浓度的 NaCl(10~30 mmol/L)可提高沙冬青种子的萌发率,NaCl 浓度为 40~100 mmol/L 时,种子萌发和芽苗生长开始受到抑制,当 NaCl 浓度在 80~100 mmol/L 时,NaCl 溶液引起了细胞的质壁分离,主要是由于盐胁迫下的渗透效应,高浓度盐抑制了种子萌发过程的水分吸入,使组织和细胞处于水分胁迫之中^[37],导致种子各项生理指标均最低。该试验沙冬青种子各项生理生化指标变化趋势与许多学者研究结果一致^[10,27,36,38-39]。

种子恢复萌发试验说明复适宜浓度赤霉素能够缓解和刺激 NaCl 胁迫对种子萌发的伤害,该研究中复蒸馏水和 200 mg/L 赤霉素后沙冬青种子能够较好的恢复萌发,并且一定浓度的赤霉素较蒸馏水更能够缓解和刺激干旱胁迫下沙冬青种子萌发,这与前人的研究结果一致^[9,27-29,40]。复蒸馏水和 200 mg/L 赤霉素后恢复萌发率均与 NaCl 浓度之间呈极显著的负相关($P < 0.001$),说明一定浓度的 NaCl 虽然抑制了沙冬青种子的萌发,但其仍保持较高的萌发潜力^[28-29,40-42];当胁迫条件解除后,沙冬青通过避开不利环境推迟萌发的生态对策以适应盐碱环境,由于低浓度盐胁迫抑制了沙冬青种子的萌发,同时也打破了种子的休眠,最终导致种子恢复萌发率有所增加^[28-29,40],种子的真实萌发潜力并未完全受盐胁迫^[27,29,36,40],该试验对于沙冬青生理生态研究和荒漠草原区人工种植沙冬青具有理论和指导意义,因此,在荒漠盐碱区广泛种植沙冬青具有可行性。

参考文献

- [1] Munns R. Comparative physiology of salt and water stress[J]. *Plant Cell and Environment*, 2002, 25(2): 239-250.
- [2] Eilers R G, Eilers W D, Pettapiece W W, et al. Salinization of soil[C]// *The health of our soils: toward sustainable agriculture in Canada*, 1995: 77-86.
- [3] Flowers T J, Yeo A R. Breeding for salinity resistance in crop plants: where next? [J]. *Functional Plant Biology*, 1995, 22(6): 875-884.
- [4] Anuradha S, Rao S S R. Effect of brassinosteroids on salinity stress induced inhibition of seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Plant Growth Regulation*, 2001, 33(2): 151-153.
- [5] Gallardo K, Job C, Groot S P C, et al. Importance of methionine biosynthesis for Arabidopsis seed germination and seedling growth[J]. *Physiologia Plantarum*, 2002, 116(2): 238-247.
- [6] Traveset A, Riera N, Mas R E. Ecology of fruit-colour polymorphism in *Myrtus communis* and differential effects of birds and mammals on seed germination and seedling growth[J]. *Journal of Ecology*, 2001, 89(5): 749-760.
- [7] 孙霞, 高信芬. 聚乙二醇(PEG)模拟干旱胁迫对干旱河谷 5 种木蓝种子萌发的影响[J]. *应用与环境生物学报*, 2010, 16(3): 317-322.
- [8] 马闯, 张文辉, 刘新成. 等渗的盐分和水分胁迫对杠柳种子萌发的影响[J]. *植物研究*, 2008, 28(4): 465-470.
- [9] 张永芳, 卫秋慧, 王润梅, 等. 外源赤霉素对盐胁迫下谷子种子萌发的影响[J]. *作物杂志*, 2012(6): 139-141.
- [10] 麦苗苗, 石大兴, 王米力, 等. PEG 处理对连香树种子萌发与芽苗生长的影响[J]. *林业科学*, 2009, 45(10): 94-99.
- [11] 王庆锁, 李勇, 张灵之. 珍稀濒危植物沙冬青研究概况[J]. *生物多样性*, 1995(3): 153-156.
- [12] 刘美芹, 卢存福, 伊伟伦. 珍稀濒危植物沙冬青生物学特性及抗逆性研究进展[J]. *应用与环境生物学报*, 2004, 10(3): 384-388.
- [13] 张洁明, 孙景宽, 刘宝玉, 等. 盐胁迫对荆条、白蜡、沙枣种子萌发的影响[J]. *植物研究*, 2006, 26(5): 595-599.
- [14] 武俊英, 刘景辉, 翟利剑, 等. 不同品种燕麦种子萌发和幼苗生长的耐盐性[J]. *生态学杂志*, 2009, 28(10): 1960-1965.
- [15] 陈国雄, 李定淑. 盐胁迫对西葫芦和黄瓜种子萌发影响的对比研究[J]. *中国沙漠*, 1996, 16(3): 306-309.
- [16] 刘奕清, 陈泽雄, 杨婉晴. 高温和干旱胁迫对尾巨桉幼苗生理特性的影响[J]. *园艺学报*, 2008, 35(5): 761-764.
- [17] 杨春武, 阿汗贾娜尔, 石德成. 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.
- [18] 吴红英. 盐胁迫对玉米种子萌发及幼苗生长的影响[J]. *干旱区资源与环境*, 2000, 14(4): 76-80.
- [19] 高英, 同延安, 赵营, 等. 盐胁迫对玉米发芽和苗期生长的影响[J]. *中国土壤与肥料*, 2007(2): 30-34.
- [20] 谢德意, 王惠萍. 盐胁迫对棉花种子萌发及幼苗生长的影响[J]. *中国棉花*, 2000, 27(9): 12-13.
- [21] Bayuelo-Jiménez J S, Craig R, Lynch J P. Salinity tolerance of species during germination and early seedling growth[J]. *Crop Science*, 2002, 42(5): 1584-1594.
- [22] 段德玉, 刘小京, 李存桢, 等. N 素营养对 NaCl 胁迫下盐地碱蓬幼苗生长及渗透调节物质变化的影响[J]. *草业学报*, 2005, 14(1): 63-68.
- [23] 孙景宽, 张文辉, 张洁明, 等. 种子萌发期 4 种植物对干旱胁迫的响应及其抗旱性评价研究[J]. *西北植物学报*, 2006, 26(9): 1811-1818.
- [24] 卢静君, 李强, 多立安. 盐胁迫对金牌美达丽和猎狗种子萌发的影响[J]. *植物研究*, 2002, 22(3): 328-332.
- [25] 宋亮, 潘开文, 王进闯, 等. 酚酸类物质对苜蓿种子萌发及抗氧化酶活性的影响[J]. *生态学报*, 2006, 26(10): 3393-3402.
- [26] 刘亚萍. 胡杨种子萌发特性及其活力骤变原因的探究[D]. 乌鲁木齐: 新疆大学, 2006.
- [27] 杨秀玲, 郁继华, 李雅佳, 等. NaCl 胁迫对黄瓜种子萌发及幼苗生长的影响[J]. *甘肃农业大学学报*, 2004, 39(1): 6-9.
- [28] 张秀玲. 盐对夏至草种子萌发以及盐胁迫解除后种子萌发能力恢复的影响[J]. *植物生理学通讯*, 2008, 44(3): 436-440.
- [29] 杨远昭. 新疆三种盐生植物种子萌发对主要生态因子响应的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2007.
- [30] 尹增芳, 何祯祥, 王丽霞, 等. NaCl 胁迫下海滨锦葵种子萌发和幼苗生长过程的生理特性变化[J]. *植物资源与环境学报*, 2006, 15(1): 14-17.
- [31] González-García M P, Rodríguez D, Nicolás C, et al. Negative regulation of abscisic acid signaling by the *Fagus sylvatica* FsPP2C1 plays a role in seed dormancy regulation and promotion of seed germination[J]. *Plant Physiology*, 2003, 133(1): 135-144.

- [32] Haslekås C, Viken M K, Grini P E, et al. Seed L-cysteine peroxiredoxin antioxidants are not involved in dormancy, but contribute to inhibition of germination during stress[J]. Plant Physiology, 2003, 133(3):1148-1157.
- [33] 王增兰. 盐芥(*Thellungiella halophila*)耐盐生理及分子生物学基础研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2004.
- [34] 胡云云, 杨洁, 张富春. NaCl胁迫对灰绿藜中保护酶活性及MDA含量的影响[J]. 生物技术, 2010, 20(4):52-54.
- [35] 许耀照, 曾秀存, 王勤礼, 等. PEG模拟干旱胁迫对不同黄瓜品种种子萌发的影响[J]. 中国蔬菜, 2010(14):54-59.
- [36] 焦树英, 李永强, 沙依拉·沙尔合提, 等. 干旱胁迫对3种狼尾草种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 西北植物学报, 2009, 29(2):308-313.
- [37] Atress S M, Feoke L C. Embryogeny of gymnosperms: advances in synthetic seed technology of conifers[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1993, 35(1):1-35.
- [38] 孙国荣, 彭永臻, 阎秀峰, 等. 干旱胁迫对白桦实生苗保护酶活性及脂质过氧化作用的影响[J]. 林业科学, 2003, 39(1):165-167.
- [39] 时忠杰, 杜阿朋, 胡哲森, 等. 水分胁迫对板栗幼苗叶片活性氧代谢的影响[J]. 林业科学研究, 2007, 20(5):683-687.
- [40] 杨景宁. 水分和盐分胁迫对四种荒漠植物种子萌发的影响[D]. 兰州: 兰州大学, 2007.
- [41] 陈文, 马瑞君, 王桔红, 等. 盐和PEG模拟干旱胁迫对沙米种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2012, 30(4):113-119.
- [42] Bewley J D. Seed germination and dormancy[J]. The Plant Cell, 1997, 9(7):1055.

Effect of NaCl Simulation of Salt Stress on Seed Germination and Seedling Growth of *Ammopiptanthus mongolicus*

ZHANG Jiao, ZHANG Da-zhi, MA Yan, LI Ying-yun

(School of Life Science, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021)

Abstract: Taking seeds of *Ammopiptanthus mongolicus* as material, seed germination and seedling growth of *Ammopiptanthus mongolicus* were measured under treatment of ten different NaCl concentrations from 10 to 100 mmol/L with incubation method, and the restoration germination of seeds was observed. The results showed that the seed germination percentage of *Ammopiptanthus mongolicus* showed a significant negative correlation ($R^2=0.9602$) with NaCl stress, seed germination percentage of *Ammopiptanthus mongolicus* were improved by low content NaCl (10 mmol/L) stress and treated with NaCl concentration at <30 mmol/L was not significantly comparing with control, however the germination of those seeds treated with NaCl at higher concentration (≥ 80 mmol/L) was inhibited. The seedling root length, the fresh weight of shoots and roots of seedlings, and the R/T rate of seedlings gradually decreased with the increasing of the concentration of NaCl, activity of POD and SOD, soluble sugar, proline tended towards increase to decrease, activity of CAT and MDA content tended to go up gradually, and TTC showed a single-peak curve. When removing these stress of NaCl, some non-germinable *Ammopiptanthus mongolicus* seeds germinated after complexed distilled water and 200 mg/L Gibberellin and recovery germination percentage reached 15.8% and 23.1%. Comprehensive comparison, *Ammopiptanthus mongolicus* seed germination recovery germination was significantly negative correlation with salt concentration. It also showed that *Ammopiptanthus mongolicus* seeds displayed a higher potential germination and salt resistance properties in a range of NaCl concentrations and were inactivated in higher concentrations.

Key words: *Ammopiptanthus mongolicus*; NaCl; salt stress; seed germination; seedling growth

怎样提高植物的抗寒性

作物抗冻性的强弱与品质的特性、栽培措施等都有密切关系。秋播作物、强冬性品种应适时早播,利用秋高气爽、强光照晒等有利条件,培育健壮的幼苗,增强抗寒能力,促使其安全越冬。春性强的品种,则不宜播种太早,否则冬前营养生长过旺,抗寒准备不足,易造成死苗。此外,适宜的播种深度、整作、施用有机肥、增施磷钾肥等,都可增加作物的抗寒本领。

抗寒锻炼要经过两个阶段:一是让植物在入冬前的好天气进行旺盛的光合作用,积累更多的“保护物质”,即越冬所需的营养物质(糖和氨基酸等),增加膜脂中不饱和脂肪酸的含量,这对防止生物膜的相变、稳定膜结构是很重要的。二是在晚秋稳定的低温条件下,控制田间灌水,使植物能够进行细胞间隙的正常脱水过程和原生质胶体状态的正常改变,并使植物组织中自由水含量减少,因而也减少了组织结冰的可能性。

经过上述两方面的锻炼,细胞原生质对不良条件的反应便会变得迟钝,抗冻能力自然就会显著增加。

(来源:中国农业技术网)