

李 波,陈雪梅,于海龙,等. 混合盐碱胁迫对苜蓿种子萌发特性的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(8):221-225.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.08.073

混合盐碱胁迫对苜蓿种子萌发特性的影响

李 波¹,陈雪梅¹,于海龙¹,李 红²,李雪婷¹,杨 翌²,杨伟光²

(1. 齐齐哈尔大学生命科学与农林学院,黑龙江齐齐哈尔 161006; 2. 黑龙江省畜牧研究所,黑龙江齐齐哈尔 161000)

摘要:以 14 个苜蓿品种的种子为试验材料,研究不同浓度混合盐碱胁迫对苜蓿种子萌发的影响。结果表明,各苜蓿种子的发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数、胚根长度、胚芽长度、干质量、鲜质量均随着复合盐碱浓度的增大而呈下降趋势,其中 E 组的盐碱浓度对种子萌发的影响最大。利用隶属函数和权重系数方法综合评价 14 个苜蓿品种的种子抗盐碱能力为:农菁 1 号>和平>龙牧 801>龙牧 806>龙牧 81>图牧 2 号>德宝>龙牧 100>草原 1 号>敖汉>龙牧 803>赛特>公农 1 号>FD₂。

关键词:苜蓿;盐碱胁迫;种子萌发;抗盐碱性;隶属函数;相关性

中图分类号:S551⁺.701 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)08-0221-05

苜蓿(*Medicago sativa* L.)是豆科多年生草本植物,是世界栽培面积最大的豆科牧草之一,具有改良土壤、耐瘠薄、抗逆性强等特点。大面积盐碱地限制了我国畜牧业的发展,苜蓿产业不仅能够促进畜牧业的发展,还能改善生态环境,但苜蓿品种间的耐盐碱性差异较大^[1-3]。种子萌发期往往是对盐碱胁迫十分敏感的时期,这一时期的特性决定了该植物在某一地区能否成功建苗^[4]。本研究通过对不同品种的苜蓿进行混合盐碱胁迫,旨在对苜蓿品种进行耐盐碱性早期鉴定,为筛选具有较高耐盐碱性的苜蓿品种提供试验依据。

收稿日期:2014-08-10

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2011BAD17B01-04);黑龙江省自然科学基金(编号:QC2014C025);黑龙江省教育厅科学技术研究(编号:12521610);黑龙江省齐齐哈尔市国际合作项目(编号:GJHZ-201202)。

作者简介:李 波(1962—),女,辽宁鞍山人,教授,主要从事细胞生物学的教学和科研工作。E-mail:libo1962@163.com。

间、青霉素溶液配制的时间不同,导致指示剂浓度、待测菌液浓度有一定差别,使个别菌株出现不同检测方法的差异。

试验结果显示,采用碘量法和酚红法测得的产生了 β -内酰胺酶的菌株,对 β -内酰胺类抗生素、氨基糖苷类抗生素均有高度的耐药性;而药敏试验中对 β -内酰胺类抗生素具有耐药性的菌株中,也有部分菌株并未产生 β -内酰胺酶。可见,产生 β -内酰胺酶是细菌对 β -内酰胺类抗生素产生耐药性的主要原因,但造成细菌耐药性的原因有很多,不单局限于 β -内酰胺酶的产生,且试验中的操作失误也可能影响试验结果。试验结果还表明,产酶菌株对万古霉素、利福平、替考拉宁的敏感程度很高,不产酶菌株对这 3 种抗生素完全敏感,且不产酶菌株对利奈唑胺均无耐药性,这与刘小朵的研究结果^[7]一致。

近年来宠物市场发展迅猛,人们对宠物健康的重视程度非常高,要求门诊医师能够凭借经验和实验室检测及时解决致病性金黄色葡萄球菌等细菌感染问题;因此,研究细菌的耐药性对于临床合理使用抗生素具有重要指导意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

14 个苜蓿品种的种子由黑龙江省畜牧研究所提供,苜蓿品种相应的品种编号见表 1。

表 1 14 个苜蓿品种的编号

编号	品种	编号	品种	编号	品种	编号	品种
1	龙牧 801	5	赛特	9	龙牧 81	13	公农 1 号
2	龙牧 806	6	草原 1 号	10	农菁 1 号	14	FD ₂
3	龙牧 803	7	德宝	11	敖汉		
4	图牧 2 号	8	龙牧 100	12	和平		

1.2 试验方法

1.2.1 盐碱浓度梯度的设置 根据黑龙江省松嫩平原一些地区盐碱地的盐碱组成,选择氯化钠、硫酸钠、碳酸钠、碳酸氢钠 4 种盐按照一定比例复合,设置 A、B、C、D、E 随盐碱浓度递增的 5 组不同复合盐碱组别。盐碱梯度的配比见表 2。

参考文献:

- [1]王彤光. 宠物疫病与防治技术[M]. 北京:化学工业出版社, 2011:78.
- [2]邵士慧,李槿年,王评评,等. 猪源致病性金黄色葡萄球菌的分离鉴定及其耐药性分析[J]. 中国微生物学杂志,2010,22(4): 308-311.
- [3]赵永达,黄显会. 一例犬金黄色葡萄球菌病的诊断及药敏试验[J]. 中国畜牧兽医,2010,37(9):225-226.
- [4]卞 聪,李 松. 215 株金黄色葡萄球菌临床分布及耐药性分析[J]. 现代医药卫生,2011,27(20):3135-3136.
- [5]陈 号,马文静,田晋红,等. 牛奶中非法添加 β -内酰胺酶的检测方法及研究现状[J]. 畜牧与饲料科学,2010,31(1):67-69.
- [6]张鑫潇,谢岩黎,王金水,等. 牛乳中 β -内酰胺酶的检测方法研究进展[J]. 中国乳品工业,2011,39(2):45-47.
- [7]刘小朵. 产 β -内酰胺酶的金黄色葡萄球菌的耐药情况分析[J]. 内蒙古中医药,2013,32(21):138.

表 2 复合盐碱梯度的设置

组别	pH 值	胁迫因素浓度 (mmol/L)					
		总盐碱浓度	Na ⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	CO ₃ ²⁻	SO ₄ ²⁻
A	8.26	20	30	0.64	9	0.64	9
B	8.38	40	60	1.28	18	1.28	18
C	8.45	60	90	1.92	27	1.92	27
D	8.53	80	120	2.56	36	2.56	36
E	8.61	100	150	3.20	45	3.20	45

1.2.2 盐碱胁迫方法 选择籽粒饱满且均匀的 14 个苜蓿品种的种子,用 0.1% 氯化汞溶液灭菌 2 min,然后均匀置于铺有 2 层滤纸的培养皿中,每皿 50 粒种子,加入 10 mL 不同浓度的复合盐碱溶液,以蒸馏水培养的种子为对照,重复 3 次。将培养皿放入光照培养箱内,设置培养温度为 25 ℃。每天 08:00 称质量并补充蒸发水分,以维持盐碱浓度的稳定。

1.2.3 耐盐碱性测定 种子活力测定:以胚根长度达到种子长度的 1/2 时为发芽,苜蓿种子发芽时间为 10 d,发芽势为 4 d 内发芽种子数。

测定指标^[5-6]:种子发芽率(%);发芽势(%);发芽指数(GI)=Σ(G_t/t)(G_t为 t d 种子发芽数,t 为对应种子发芽时间,t=1,2,⋯,7);活力指数=GI×S(S 为胚根的平均根质量)。

胚根和胚芽长度测定:种子萌发 10 d 后,把芽苗分成地上部和地下部,用刻度尺分别测量它们的胚根长、胚芽长。

芽苗鲜质量、干质量的测定:从每个培养皿中分别挑选 5 株具代表性的芽苗,用吸水纸吸干水分后迅速称质量。将测量过鲜质量的芽苗放入 80 ℃烘箱中,24 h 后烘干至恒质量。

1.3 耐盐性评价与分析

耐盐系数的计算公式为:
耐盐系数=(不同盐碱浓度处理下平均测定值/对照测定值)×100%。

相关分析法:采用 SPSS 统计软件进行相关性分析。
综合分析法^[7]:采用隶属函数法对不同品种的苜蓿在试验中测得的隶属值进行累加,求得平均数并进行分析比较,以评定出复合盐碱对苜蓿种子萌发特性的影响。

隶属函数计算方法:
$$X_{1(u)} = (X - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})。$$

式中:X_{1(u)}为隶属函数值;X 为经过复合盐碱胁迫条件下某指标的测定值;X_{max}为所有品种中此指标的最大值;X_{min}为所有品种中此指标的最小值。

权重系数=某复合盐碱浓度下各指标的综合耐盐系数/各浓度各指标的耐盐系数之和;
综合评价价值=隶属函数×权重系数。

2 结果与分析

2.1 复合盐碱胁迫对苜蓿种子发芽率和发芽势的影响
14 个苜蓿品种的发芽率、发芽势变化分别见图 1、图 2。低浓度的复合盐碱对苜蓿发芽率和发芽势的影响不明显,随着复合盐碱浓度的提高,发芽率和发芽势呈现显著下降趋势。E 组复合盐碱浓度胁迫下,苜蓿的发芽率、发芽势均最低。14 个苜蓿品种种子的发芽率、发芽势的综合耐盐系数见表 3,耐盐系数体现了品种的耐盐碱性强弱。从发芽率角度看,和平耐盐性最强,草原 1 号最弱;从发芽势角度看,龙牧 806 耐盐性最强,龙牧 81 最弱。对复合盐碱胁迫下的苜蓿发芽率、发芽势进行方差分析表明,品种间发芽率、发芽势的差异极显著(P<0.01),不同复合盐碱浓度梯度间发芽率和发芽势差异极显著(P<0.01)。

2.2 复合盐碱胁迫对苜蓿芽苗干质量、鲜质量的影响
14 个苜蓿品种芽苗的鲜质量、干质量的变化分别见图 3、图 4。低浓度的复合盐碱对苜蓿鲜质量、干质量的影响不明显,随着复合盐碱浓度的提高,鲜质量、干质量呈现显著下降

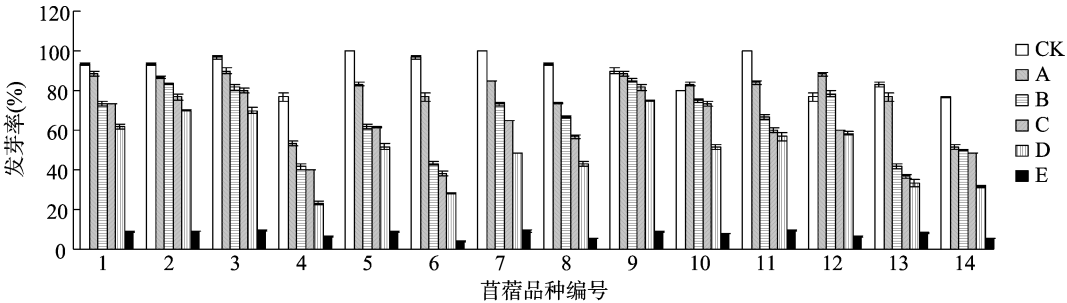


图1 复合盐碱胁迫下苜蓿种子发芽率的变化

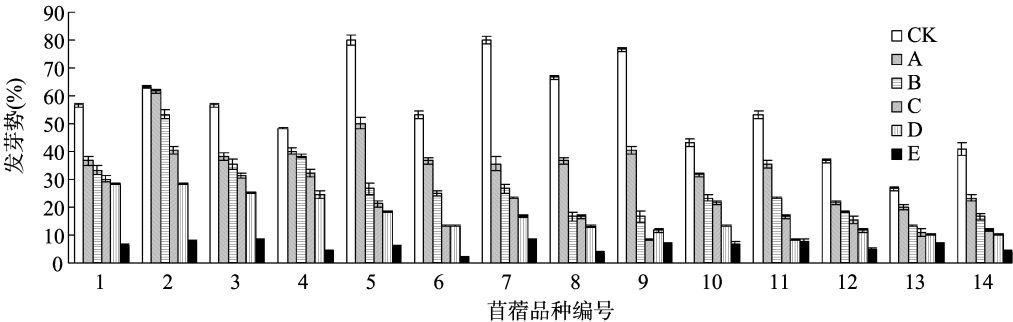


图2 复合盐碱胁迫下苜蓿种子发芽势的变化

表 3 苜蓿种子萌发期不同指标的综合耐盐系数

品种	综合耐盐系数							
	发芽率	发芽势	鲜质量	干质量	胚根长度	胚芽长度	发芽指数	活力指数
龙牧 801	0.654 5	0.476 5	0.570 5	0.495 4	0.632 8	0.624 3	0.420 3	0.299 3
龙牧 806	0.698 1	0.605 0	0.597 1	0.425 0	0.427 7	0.734 0	0.316 5	0.150 7
龙牧 803	0.685 1	0.489 3	0.544 8	0.483 3	0.512 9	0.571 8	0.220 0	0.141 8
图牧 2 号	0.429 6	0.578 4	0.555 7	0.487 1	0.456 3	0.669 6	0.201 0	0.106 7
赛特	0.534 2	0.307 1	0.426 4	0.529 5	0.664 6	0.530 9	0.317 7	0.232 4
草原 1 号	0.394 0	0.339 7	0.512 9	0.422 2	0.822 6	0.821 3	0.318 2	0.292 6
德宝	0.561 0	0.277 3	0.488 1	0.486 6	0.704 3	0.709 6	0.554 1	0.445 3
龙牧 100	0.525 9	0.260 4	0.511 5	0.622 2	0.613 8	0.795 1	0.288 7	0.199 9
龙牧 81	0.752 8	0.218 9	0.515 9	0.522 7	0.637 3	0.687 3	0.638 8	0.457 8
农菁 1 号	0.728 3	0.447 6	0.522 2	0.463 9	0.738 4	0.875 9	0.815 2	0.618 2
敖汉	0.553 4	0.343 6	0.550 6	0.463 6	0.597 4	0.740 4	0.230 7	0.176 2
和平	0.760 2	0.393 2	0.478 0	0.505 2	0.776 3	0.785 8	0.735 9	0.623 8
公农 1 号	0.472 0	0.461 6	0.673 0	0.379 0	0.365 6	0.685 4	0.167 4	0.068 0
FD ₂	0.488 6	0.323 1	0.528 6	0.408 9	0.394 3	0.733 6	0.138 7	0.070 6

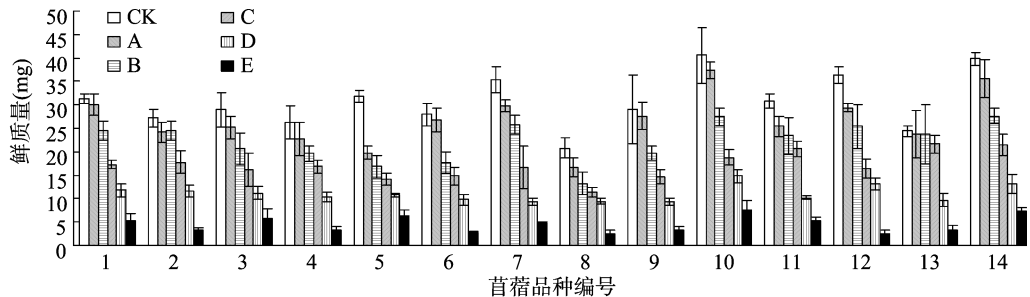


图3 复合盐碱胁迫下苜蓿芽苗鲜质量的变化

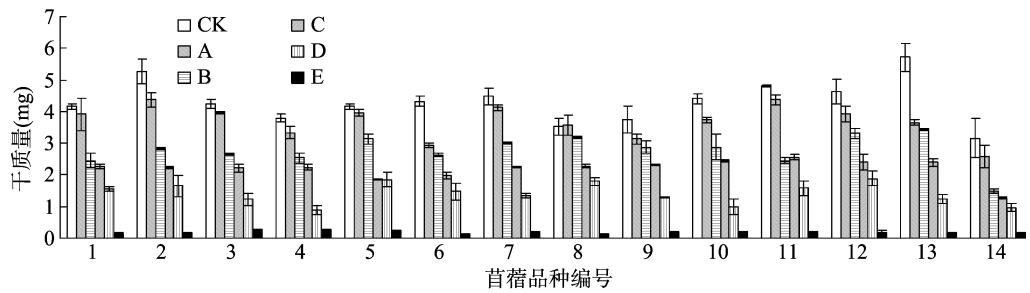


图4 复合盐碱胁迫下苜蓿芽苗干质量的变化

趋势。E 组复合盐碱浓度胁迫下,苜蓿芽苗的鲜质量和干质量普遍较低。从鲜质量角度看,公农 1 号耐盐性最强,赛特最弱;从干质量角度看,龙牧 100 耐盐性最强,公农 1 号最弱(表 3)。对复合盐碱胁迫下的苜蓿鲜质量、干质量进行方差分析表明,品种间鲜质量和干质量差异极显著($P<0.01$),不同复合盐碱浓度梯度间鲜质量、干质量差异极显著($P<0.01$)。

2.3 复合盐碱胁迫对苜蓿胚根、胚芽长度的影响

14 个苜蓿品种的胚根、胚芽长度变化分别见图 5、图 6。低浓度的复合盐碱对苜蓿胚根、胚芽长度的影响不明显,随着复合盐碱浓度的提高,胚根、胚芽长度呈现下降趋势。E 组复合盐碱浓度胁迫下,苜蓿的胚根和胚芽长度普遍较低。从胚根长度看,草原 1 号耐盐性最强,公农 1 号最弱;从胚芽长度看,农菁 1 号耐盐性最强,赛特最弱(表 3)。对复合盐碱胁迫下的苜蓿胚根和胚芽长度进行方差分析表明,品种间胚根、胚芽长度差异极显著($P<0.01$),不同复合盐碱浓度梯度间胚

根、胚芽长度差异极显著($P<0.01$)。

2.4 复合盐碱胁迫对苜蓿种子发芽指数、活力指数的影响

14 个苜蓿品种的发芽指数、活力指数变化分别见图 7、图 8。低浓度的复合盐碱对苜蓿发芽指数和活力指数的影响不明显,随着复合盐碱浓度的提高,发芽指数和活力指数呈现显著下降趋势。E 组复合盐碱浓度胁迫下,苜蓿的发芽指数和活力指数最低。从发芽指数角度看,农菁 1 号耐盐性较强,FD₂ 较弱;从活力指数角度看,和平耐盐性最强,公农 1 号最弱(表 3)。对复合盐碱胁迫下苜蓿的发芽指数和活力指数进行方差分析表明,品种间发芽指数和活力指数差异极显著($P<0.01$),不同复合盐碱浓度梯度间发芽指数和活力指数差异极显著($P<0.01$)。

2.5 对芽苗期各指标的隶属函数和权重系数综合分析

耐盐系数大小体现了品种的耐盐碱性强弱,但是应用单一指标的耐盐系数不能准确全面评价苜蓿品种耐盐碱性的大

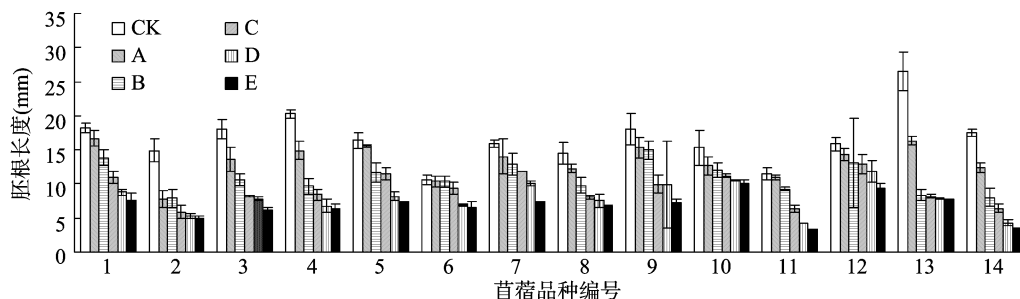


图5 复合盐碱胁迫下苜蓿胚根长度的变化

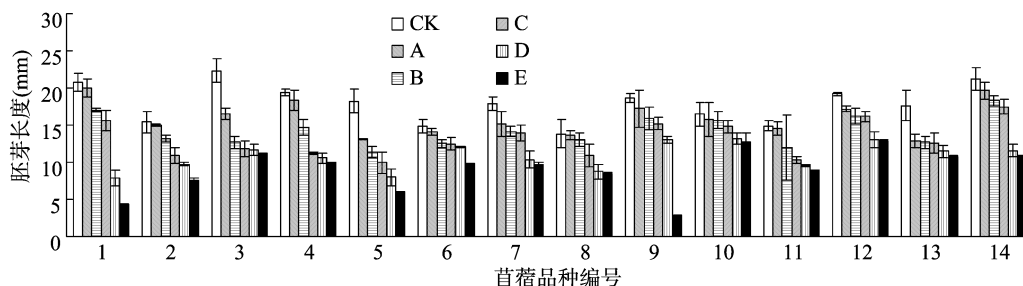


图6 复合盐碱胁迫下苜蓿胚芽长度的变化

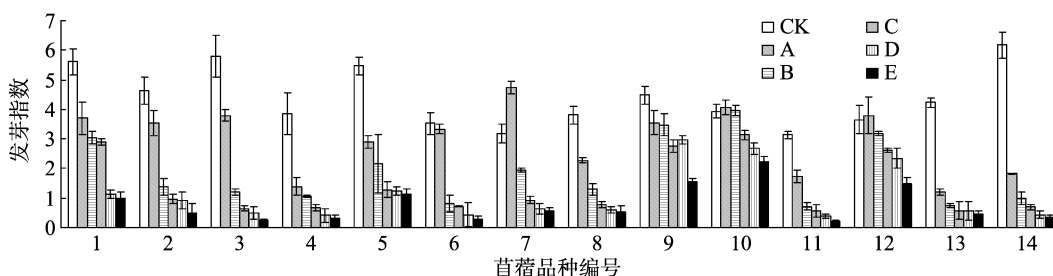


图7 复合盐碱胁迫下苜蓿种子发芽指数的变化

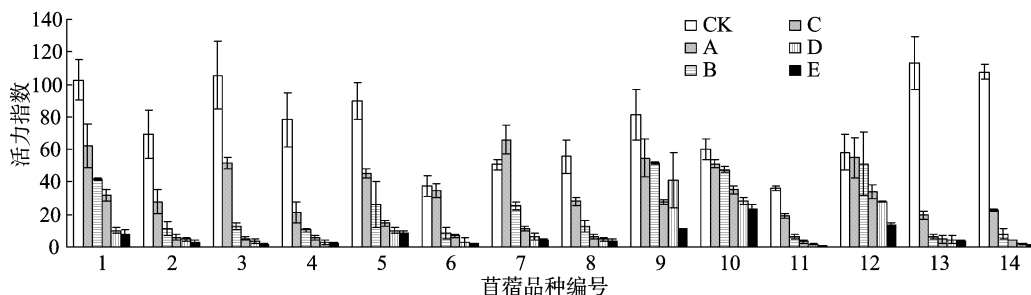


图8 复合盐碱胁迫下苜蓿种子活力指数的变化

小。利用隶属函数和权重系数对苜蓿种子的发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数、胚根长度、胚芽长度、芽苗的干质量和鲜质量这 8 项指标进行综合分析,表 4 结果表明,苜蓿各品种的耐盐碱能力从大到小依次为农蓿 1 号 > 和平 > 龙牧 801 > 龙牧 806 > 龙牧 81 > 图牧 2 号 > 德宝 > 龙牧 100 > 草原 1 号 > 敖汉 > 龙牧 803 > 赛特 > 公农 1 号 > FD₂。

2.6 对芽苗期各指标的相关性分析

利用 SPSS 17.0 软件对各个指标的隶属值进行相关性分析,表 5 结果表明,发芽率与发芽指数、活力指数呈极显著正相关 ($P < 0.01$);鲜质量与干质量、胚根长度分别呈显著 ($P < 0.05$)、极显著 ($P < 0.01$) 负相关;发芽势与鲜质量呈显著正相关 ($P < 0.05$);发芽指数分别与发芽率、胚根长度、活力指

数呈极显著正相关 ($P < 0.01$)。

3 结论与讨论

植物的耐盐性随个体发育的阶段不同而发生变化,种子萌发期是植物对盐胁迫较为敏感的时期,决定植物在某一地区能否成功建苗。种子发芽率和发芽势可以衡量种子质量好坏,显示种子胚的活性。发芽势是鉴别种子发芽整齐度的主要指标,在发芽率相同时,发芽势高的种子,生命力更强。种子失去发芽能力之前,已发生了劣变,可从发芽势或发芽指数反映出来,故两者比发芽率更能灵敏地表现种子活力^[8]。本试验对照组中种子的发芽率低于 90% 的苜蓿品种有图牧 2 号、农蓿 1 号、和平、公农 1 号和 FD₂ 苜蓿等,发芽势低于 50%

表 4 苜蓿种子萌发各指标进行隶属函数和权重系数综合分析

品种	不同复合盐碱浓度下的隶属函数					综合 <i>D</i> 值	综合 <i>D</i> 值 排名
	A 组	B 组	C 组	D 组	E 组		
龙牧 801	0.273 2	0.201 8	0.161 0	0.074 0	0.033 2	0.148 6	3
龙牧 806	0.256 9	0.214 4	0.136 0	0.079 4	0.028 6	0.143 1	4
龙牧 803	0.211 5	0.145 0	0.115 2	0.065 0	0.041 1	0.115 6	11
图牧 2 号	0.257 1	0.198 5	0.144 9	0.053 2	0.036 6	0.138 1	6
赛特	0.182 0	0.119 9	0.076 3	0.060 8	0.040 8	0.096 0	12
草原 1 号	0.261 9	0.155 9	0.098 1	0.064 1	0.021 7	0.120 3	9
德宝	0.255 6	0.175 1	0.111 3	0.049 2	0.037 0	0.125 7	7
龙牧 100	0.230 1	0.161 7	0.108 6	0.080 5	0.026 6	0.121 5	8
龙牧 81	0.244 7	0.194 9	0.127 0	0.100 9	0.034 3	0.140 4	5
农菁 1 号	0.289 6	0.248 5	0.198 1	0.102 9	0.066 9	0.181 2	1
敖汉	0.248 0	0.149 9	0.102 2	0.045 8	0.034 4	0.116 0	10
和平	0.231 5	0.217 0	0.161 5	0.106 1	0.043 9	0.152 0	2
公农 1 号	0.164 1	0.123 3	0.094 0	0.046 7	0.036 4	0.092 9	13
FD ₂	0.170 3	0.115 1	0.075 0	0.045 8	0.029 0	0.087 0	14
权重系数	0.319 0	0.253 6	0.202 0	0.155 4	0.080 7		

表 5 苜蓿种子萌发各指标相关性分析

指标	相关系数							
	发芽率	发芽势	鲜质量	干质量	胚根长度	胚芽长度	活力指数	发芽指数
发芽率	1.000							
发芽势	0.079	1.000						
鲜质量	-0.118	0.580 *	1.000					
干质量	0.229	-0.419	-0.575 *	1.000				
胚根长度	0.219	-0.415	-0.679 **	0.384	1.000			
胚芽长度	0.031	-0.113	0.031	-0.107	0.346	1.000		
活力指数	0.698 **	-0.208	-0.405	0.263	0.691 **	0.407	1.000	
发芽指数	0.616 **	-0.287	-0.491	0.276	0.793 **	0.428	0.982 **	1.000

注：“**”表示极显著相关($P<0.01$)；“*”表示显著相关($P<0.05$)。

的同样为图牧 2 号、农菁 1 号、和平、公农 1 号和 FD₂ 苜蓿,这 5 个苜蓿品种种子的发芽率和发芽势均较低,说明盐碱胁迫对苜蓿种子的萌发状况产生一定的影响。

苜蓿种子在不同的盐碱条件下萌发率高低是盐碱化草地苜蓿成苗的关键因素之一,是苜蓿能否在盐碱环境中生存的基础^[8]。对 14 个苜蓿品种种子在不同复合盐碱浓度梯度的胁迫下的幼苗期耐盐碱性强弱的比较,可以较全面了解苜蓿在种子萌发初期对复合盐碱的耐性。盐碱胁迫对苜蓿种子萌发的影响较为复杂,种子生活力的反映指标主要有发芽率、发芽势、活力指数、发芽指数等指标。通常生活力高的种子不仅发芽指数高,而且幼苗生长量较大,适应外界不良环境的能力强。试验表明,不同复合盐碱浓度处理下种子发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数、鲜质量、干质量、胚根长度、胚芽长度变化明显。随着处理浓度的增大,发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数、鲜质量、干质量、胚根长度、胚芽长度均呈下降趋势。

本研究对 14 个苜蓿品种的种子进行了不同复合盐碱浓度的处理,结果表明:(1)高浓度的复合盐碱对苜蓿种子萌发有明显抑制作用,而且随着复合盐碱浓度的增大,对不同品种苜蓿种子萌发的影响程度越大。(2)苜蓿品种抗盐碱性强弱为:农菁 1 号>和平>龙牧 801>龙牧 806>龙牧 81>图牧 2

号>德宝>龙牧 100>草原 1 号>敖汉>龙牧 803>赛特>公农 1 号>FD₂。

参考文献:

[1]范 方,张玉霞,姜 健,等. 盐胁迫及解除胁迫后对紫花苜蓿萌发的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(1):195-199.

[2]石 杰,高 宇,阴玉华,等. 高寒盐碱地区紫花苜蓿引种研究[J]. 安徽农业科学,2012,40(17):9274-9275.

[3]王小山,朱平华,鲍国成,等. 盐碱胁迫对紫花苜蓿根、茎和叶重要养分离子平衡的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(7):190-195.

[4]熊向云,杨佳隆,李效禹,等. 宁夏黄河灌区盐碱地不同苜蓿品种种植试验[J]. 草业科学,2005,22(11):36-39.

[5]韩清芳,李崇巍,贾志宽. 不同苜蓿品种种子萌发期耐盐性的研究[J]. 西北植物学报,2003,23(4):597-602.

[6]范可章,朱茂英,陈 灵,等. 4 种紫花苜蓿在不同 pH·盐及盐碱胁迫下出苗情况的比较[J]. 安徽农业科学,2011,39(24):14889-14892,15000.

[7]韩瑞宏,卢欣石,高桂娟,等. 紫花苜蓿抗旱性主成分及隶属函数分析[J]. 草地学报,2006,14(2):142-146.

[8]沈振荣,杨万仁,徐秀梅. 不同盐分胁迫对苜蓿种子萌发的影响[J]. 种子,2006,25(4):34-37.