

组织培养下盐胁迫紫花苜蓿种子的萌发特性研究

马进, 王小德, 郑钢

(浙江林学院 园林学院, 浙江 临安 311300)

摘要:以紫花苜蓿品种 Victoria 种子为材料,研究组织培养下盐胁迫紫花苜蓿种子的发芽率、相对发芽率及胚根胚芽的生长。结果表明:随盐浓度升高,紫花苜蓿种子发芽的时间推后。低盐浓度在短时间内对紫花苜蓿的种子萌发和生长有促进效应。紫花苜蓿耐盐半致死浓度为 133.1 mmol/L,耐盐极限浓度为 224.0 mmol/L。盐胁迫对胚根抑制作用大于胚芽。

关键词: 紫花苜蓿; 组织培养; 盐胁迫; 种子萌发

中图分类号: S 551⁺.7

文献标志码: A

文章编号: 1001-4705(2008)07-0029-03

The Effect of Seed Germination of Salt-tolerant on Alfalfa in Vitro Culture

MA Jin, WANG Xiao-de, ZHENG Gang

(Faculty of Landscape Architecture, Zhejiang Forestry College, Lin, an 311300, Zhejiang, China)

Abstract: Seeds of alfalfa (*Medicago sativa* L.) varieties, cv. Victoria has been studied by measuring seed germinating rate, relative germination rate, extension of radicle and embryo of salt-tolerant Alfalfa in Vitro. The results show that time of seed germination has been delayed with the increasing salt concentration in the seedling period but seed germination and growth has been improved in a short time. Its semi-lethal concentration was 133.1 mmol/L, and its limit concentration was 224.0 mmol/L. Lengths of radicles has been more decreased than the lengths of embryos in salt-tolerant.

Key words: alfalfa; vitro culture; Salt-tolerant; seed germination

盐害是 21 世纪世界农业的重要问题^[1],目前全世界 20% 可耕地受到盐渍化的影响,这使植物耐盐性研究迫在眉睫。但对于多基因控制植物耐盐数量性状,采用基因工程方法培育耐盐植物品种难以取得突破。随着植物细胞培养技术的发展和细胞全能性,体细胞无性系变异存在着广泛性的证实^[2],显出用细胞培养技术从高等植物细胞中分离出耐盐突变体的可能性,为植物耐盐性改良提供了新的思路。紫花苜蓿 (*Medicago sativa* L.) 属多年生异花授粉豆科植物,为世界重要的高蛋白质绿色饲料,被誉为“牧草之王”。近年来,由于引进国外高秋眠级紫花苜蓿新品种,率先解决了紫花苜蓿在江南地区的种植难题。江南地区滩涂资源比较丰富,但紫花苜蓿只能在轻度盐碱地种植,限制了其在江南地区滩涂地大面积种植。本试验采用组织培养技术,以南方型紫花苜蓿 Victoria 为接种材料,在培养基中添加不同浓度的 NaCl,以探究盐胁迫

下 Victoria 南方型紫花苜蓿种子的萌发特性,确定耐盐材料筛选的适当 NaCl 浓度,为进一步培育耐盐突变体紫花苜蓿新品种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为 Victoria 紫花苜蓿,由北京克劳沃公司提供。

1.2 组织培养

挑选籽粒饱满、无病的 Victoria 种子,用自来水浸泡 30 min,以解除其休眠性。在超净工作台上,用 70% 的酒精浸泡 1 min,再用 0.1% 的 HgCl₂ 溶液浸泡 15 min,灭菌,用无菌水冲洗 4~5 次,每次冲洗 2~3 min,其间不停振荡,将种子表面的升汞洗涤干净,再用无菌滤纸吸干种子表面的液体,然后将种子接于不同盐处理浓度的 MS 基本培养基 (MS + 3% 蔗糖 + 0.7% 琼脂) 上, pH 值为 5.8,光照培养 14 h、黑暗培养 10 h。

1.3 试验设计

NaCl 浓度分别为 0 (ck)、25、50、75、100、125、150、175、200 mmol/L,共 9 个处理。每处理接种 50 粒种子,每瓶 10 粒,共接种 5 瓶,在培养架上随机区组排

收稿日期: 2008-02-27

基金项目: 浙江省自然科学基金资助 (Y 304072)。

作者简介: 马进 (1973-),男,副教授,博士研究生,从事园林植物方面研究和利用; E-mail: majinzjl@hotmail.com。

列,3次重复。

1.4 指标测定

观察出苗过程,依照国家种子检验规程,指标测定按照文献[3]。种子萌发12 d后,每个重复随机选取20粒测量胚根长、胚芽长、胚根鲜重、胚芽鲜重,计算平均值。耐盐极限浓度为发芽指数达到对照发芽指数10%时相对应的盐浓度值;耐盐半致死浓度为发芽指数达对照发芽指数的50%时相对应的盐浓度值。

2 结果与分析

2.1 NaCl胁迫对紫花苜蓿种子发芽率的影响

NaCl浓度对紫花苜蓿种子发芽率的影响如图1所示。从图1可以看出:NaCl浓度为0(ck)、25、50 mmol/L,紫花苜蓿种子最终萌发率增大,但随着盐浓度增加,发芽率呈下降趋势,说明盐胁迫增强,种子累积发芽率降低,发芽整齐度下降。NaCl浓度为0时,紫花苜蓿种子第3天才出现发芽;25~125 mmol/L的盐浓度条件下,第2天出现发芽;150 mmol/L盐浓度下,第3天后出现发芽;75~200 mmol/L盐浓度下,第4天出现发芽,这说明随着盐浓度增加,发芽率逐渐降低,发芽时间推后。从图1还可以看出,25 mmol/L NaCl处理,12天后最终发芽略高于对照,说明低盐浓度在短时间对紫花苜蓿的种子萌发起到促进作用。这种现象可能与低盐胁迫细胞渗透势有关^[4],也可能促进细胞渗透有关,也可能是微量的无机离子(Na^+)对呼吸酶的刺激作用^[5]。

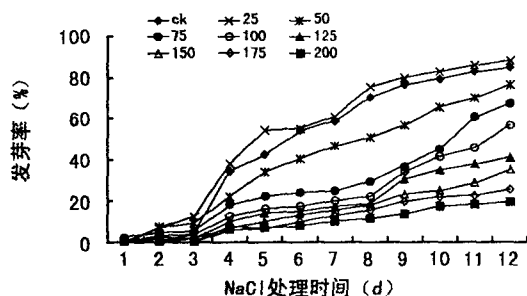


图1 盐胁迫下紫花苜蓿种子萌发情况

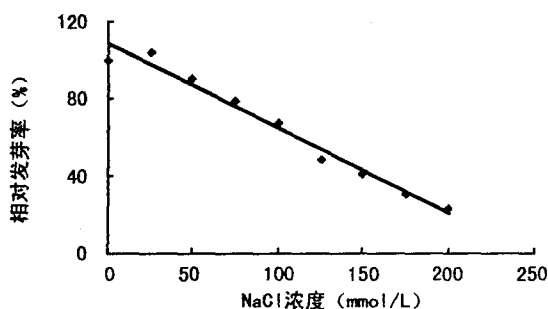


图2 紫花苜蓿种子的相对发芽率与盐浓度的关系

2.2 NaCl胁迫对紫花苜蓿种子萌发耐盐半致死浓度和耐盐极限浓度的确定

为了反映种子萌发的速度和整齐度,以对照所对应的发芽率为基数,计算出各浓度处理下的相对发芽率(见图2)。从图2可以看出,盐胁迫下的相对发芽率均随培养基盐浓度的升高而降低。相关分析结果表明,相对发芽率与培养基盐浓度呈显著负相关关系($r = -0.988$),进一步进行回归分析得出回归方程为: $y = -0.440x + 108.56$,求得紫花苜蓿培养基上发芽盐胁迫最大耐盐极限浓度为224.0 mmol/L,耐盐半致死浓度为133.1 mmol/L。

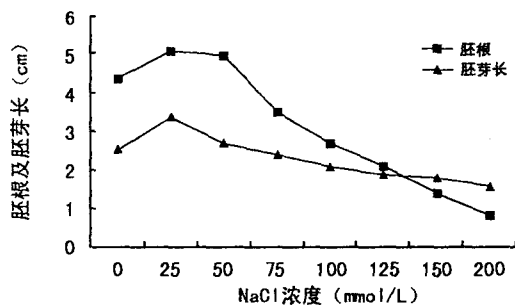


图3 盐胁迫对紫花苜蓿胚根和胚芽生长的影响

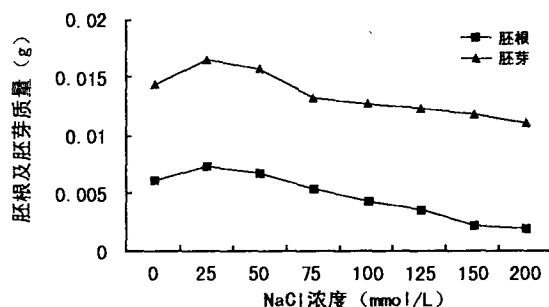


图4 盐胁迫对紫花苜蓿胚根和胚芽质量的影响

2.3 NaCl胁迫对紫花苜蓿种子萌发后胚根和胚芽的影响

对紫花苜蓿种子在培养基上萌发12天后的胚根和胚芽进行质量和长度测定,结果表明,盐胁迫对幼苗胚根和胚芽生长的影响基本一致,即随着盐浓度的增加,胚根和胚芽的生长量均降低(图3)。但在盐浓度<50 mmol/L时,胚根的生长量要高于对照,说明低盐胁迫时细胞的渗透势降低,促进了胚根生长,加强对水分的吸收^[5],当NaCl浓度>50 mmol/L时,盐分对胚根生长起到抑制作用。胚芽生长在盐浓度<50 mmol/L时,胚根的生长量要高于对照,说明低盐浓度对胚芽生长起促进作用。从图3和图4还可以看出,盐胁迫对胚根生长和质量变化幅度要比胚芽生长和质量变化幅度要大,说明盐胁迫对胚根的抑制作用要大于胚芽,

表明胚根是对盐胁迫比较敏感的部位。

3 结论与讨论

盐胁迫对种子萌发的研究已有许多报道,种子耐盐性因品种的不同而有一定的差异。盐胁迫对盐生植物和非盐生植物来说,都造成种子发芽率下降,发芽时间推迟和延长^[6]。本实验结果表明,紫花苜蓿在无盐和低盐条件下,都可以正常萌发生长,低盐浓度有利于紫花苜蓿生长,而高盐浓度使紫花苜蓿种子萌发和生长都变得缓慢,过高的盐浓度导致种子坏死,幼芽死亡和幼根腐烂。低盐浓度对紫花苜蓿种子萌发和生长的促进作用,可能是由于低盐浓度可促进细胞膜的渗透条件,增强渗透调节能力及对抗外界不良环境的能力,而且 Na^+ 对呼吸酶有激活作用^[7]。

种子是植物重要的繁殖材料,它在发芽阶段的耐盐状况在一定程度上反映了该物种的耐盐程度^[8]。种子耐盐性是耐盐植物筛选与早期鉴定的主要依据之一^[9]。本实验结果表明,南方型紫花苜蓿 *Victoria* 盐半致死浓度为 133.1 mmol/L,耐盐极限浓度为 224.0 mmol/L,为利用组织培养筛选南方型耐盐紫花苜蓿提供理论依据。

有关紫花苜蓿耐盐性鉴定方面,多在大田或实验室进行^[10,11],大田试验需要的时间长,且条件不容易控制;用实验室纸上法,其离子组成与实际情况差异较大。采用组织培养对紫花苜蓿进行耐盐性鉴定同常规

鉴定方法相比,具有方便、快捷等优点。

参考文献:

- [1] Flowers T J. Salinisation and horticultural production[J]. *Scientia Horticulturae*, 1999, 78: 1 - 4.
 - [2] Larkin P J, Scowcroft W R. Somaclonal variation-a novel source of variability from cell cultures for plant improvement[J]. *Theor Appl Genet*, 1981, 60: 192 - 214.
 - [3] 黄学林, 陈润改. 种子生理学实验手册[M]. 北京: 中国农业出版社, 1985: 83 - 87.
 - [4] 刘祖祺, 张石城. 植物抗性生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 251 - 254.
 - [5] 王亚庆, 刘敏, 张守栋, 等. 盐胁迫对盐角草种子萌发与幼苗生长效应的研究[J]. *江苏农业科学*, 2002(2): 69 - 71.
 - [6] 李潮流, 周湖平, 张国芳, 等. 盐胁迫对多叶型苜蓿种子萌发的影响[J]. *中国草地*, 2004, 26(2): 21 - 25.
 - [7] 刘果厚, 王树森, 任侠. 3种濒危植物种子萌发期抗盐性和抗旱性研究[J]. *内蒙古林学院学报*, 1999, 21(1): 79 - 81.
 - [8] Gupta G N. Salt tolerance in dome tree species at seedling stage[J]. *Indian Forest*, 1987, 12: 101 - 112.
 - [9] 阎顺国, 沈禹颖. 生态因子对碱茅种子萌发期耐盐性影响的数量分析[J]. *植物生态学报*, 1996, 20(5): 414 - 422.
 - [10] 韩清芳, 李崇巍, 贾志宽. 不同苜蓿品种种子萌发期耐盐鉴定性的研究[J]. *西北植物学报*, 2003, 23(4): 597 - 602.
 - [11] 王征宏, 杨起, 张亚冰. 盐胁迫下紫花苜蓿种子的萌发特性[J]. *河南科技大学学报*, 2006, 27(1): 67 - 69.
-
- (上接第 28 页)
- 所下降。植物品种不同,叶片组织的含水量不同。耐热性强的品种在高温逆境下水分吸收和丧失能在较大范围内保持平衡,细胞持水能力更强,因而表现较强的抗热能力^[7]。上述生理指标的变化幅度与月季品种的耐热性均呈负相关,这与前文提到的其它植物品种的研究结果相一致。
- 高温下,月季品种的形态变化与其耐热性直接相关,而生理变化是形态变化的内部因素,本研究涉及的形态指标研究结果与生理指标研究结果相一致,均可以用于检测月季品种的耐热性。
- 参考文献:**
- [1] 温晓刚, 林世青, 匡廷云. 高温胁迫对光系统异质性的影响[J]. *生物物理学报*, 1996, 12(4): 714 - 718.
 - [2] Mehdiladjal, Daniel Epron & Miche l Ducrey. Effects of drought precondition in gonthermo tolerance of photosynthesis and susceptibility of photosynthesis to heat stress in cedar seedlings[J]. *Tree Physiology*, 2000, 20: 1235 - 1241.
 - [3] Abar Tsur, Rudich J, Bravdo B. High temperature effects on CO_2 gas exchange in heat tolerance and sensitive tomatoes[J]. *Tamer SocSci*, 1985, 110(4): 582 - 586.
 - [4] 马德华, 庞金安. 黄瓜对不同温度逆境的抗性研究[J]. *中国农业科学*, 1999, 32(5): 28 - 35.
 - [5] 叶陈亮, 柯玉琴. 大白菜耐热生理研究 II 叶片水分和蛋白质代谢与耐热性[J]. *福建农业大学学报*, 1996, 25(4): 290 - 293.
 - [6] Levitt A D. Response of plant to environmental stresses[M]. Volume 1. New York: Academic press, 1990.
 - [7] 司家钢, 孙目正. 高温胁迫对大白菜耐热性相关生理指标的影响[J]. *中国蔬菜*, 1995, (4): 4 - 6.