



文章编号:1000-4025(2017)06-1166-09

doi:10.7606/j.issn.1000-4025.2017.06.1166

温度及盐胁迫对地梢瓜种子萌发及抗氧化酶活性的影响

张晓艳,杨忠仁,郝丽珍,张凤兰*,郑清岭,郭霏,翟学婧

(内蒙古农业大学农学院,内蒙古自治区野生特有蔬菜种质资源与种质创新重点实验室,呼和浩特 010019)

摘要:以地梢瓜种子为试料,研究不同温度($5 \sim 45^{\circ}\text{C}$)及不同浓度NaCl胁迫($0 \sim 300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)对种子萌发及其抗氧化酶活性的影响。结果表明:(1)随着温度升高,种子各萌发指标呈先升高后降低的趋势,过高或过低均显著抑制种子正常萌发,萌发最适温度为 25°C ,在 5°C 和 35°C 条件下种子恢复萌发率均达95%以上。(2)随着NaCl浓度升高,种子萌发率、萌发势、活力指数呈显著下降趋势,而其相对盐害率呈增加趋势,且在 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl时萌发受到完全抑制;种子根系活力仅在高浓度NaCl($>150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)下受到显著抑制;种子在解除盐胁迫后可一定程度恢复萌发,但最终依然受到盐胁迫的显著抑制,且盐浓度越高抑制越严重,其耐盐适宜浓度为 $65.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。(3)种子萌发率与盐胁迫下POD、APX活性呈显著正相关关系,而与相应 O_2^- 生成速率、MDA含量呈显著负相关关系;种子活力指数与盐胁迫下CAT活性呈显著负相关关系。研究发现,地梢瓜种子萌发受到NaCl胁迫的显著抑制,保护酶POD与APX在盐胁迫种子萌发过程中发挥着主要抗氧化作用;地梢瓜适于在中度盐渍土中萌发生长。

关键词:地梢瓜;温度;NaCl;种子萌发;抗氧化酶活性

中图分类号:Q945.78

文献标志码:A

Effect of Temperature and Salt Stress on Seed Germination and Antioxidant Enzyme Activities of *Cynanchum thesioides* (Freyn). K. Schum

ZHANG Xiaoyan, YANG Zhongren, HAO Lizhen, ZHANG Fenglan*,
ZHENG Qingling, GUO Fei, ZHAI Xuejing

(College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Inner Mongolia Autonomous Region Key Laboratory of Wild Peculiar Vegetable Germplasm Resource and Germplasm Enhancement, Hohhot 010019, China)

Abstract: The effects of different temperature ($5 \sim 45^{\circ}\text{C}$) and NaCl ($0 \sim 300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) on seed germination index and antioxidant enzyme activities of *Cynanchum thesioides* (Freyn). K. Schum were studied. The results showed that: (1) with the increase of temperature, germination index of seed all increased first and then decreased. The low or high temperature inhibited significantly seed germination. The optimum temperature for germination was 25°C , and its recovery germination ratio was over 95% at 5°C and 35°C . (2) As NaCl concentration went up, the germination ratio, germination potentiality, vigor index of seed decreased, but relative salt injury rate increased and germination was completely inhibited at $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$.

收稿日期:2017-01-13;修改稿收到日期:2017-05-25

基金项目:内蒙古自然科学基金(2015MS0359);内蒙古农业大学博士启动基金(BJ09-17);公益性行业(农业)科研专项(201203004);内蒙古主席基金;内蒙古农业大学科技创新(培育)团队(NDPYTD2013-3)

作者简介:张晓艳(1991—),女,在读博士研究生,主要从事蔬菜种质资源及种质创新研究。E-mail:zhangxiaoyan5329@163.com

*通信作者:张凤兰,博士研究生,副教授,主要从事蔬菜种质资源与种质创新研究。E-mail:zhangfenglan041105@163.com

L^{-1} 。The root vigor of seed was inhibited significantly only at high NaCl concentration ($>150 \text{ mmol} \cdot L^{-1}$), the seed could recover germination after the salt stress was relieved, but it was still inhibited by salt stress. The higher salt concentration, the more prohibitive, and the appropriate content of salt-tolerant was 65.25 $\text{mmol} \cdot L^{-1}$ (the salt content is 0.38%). (3) Under salt stress, the germination ratio was positively correlated with POD and APX, but negatively correlated with O_2^- generation rate and MDA, the vigor index was negatively correlated with CAT. Therefore, the seed germination was significantly inhibited by salt stress, protective enzymes POD and APX played a major antioxidant role during seed germination under salt stress, *Cynanchum thesioides* (Freyn). K. Schum was suitable for germination in moderate saline soil.

Key words: *Cynanchum thesioides* (Freyn). K. Schum; temperature; NaCl; seed germination; antioxidant enzyme activity

目前,中国盐渍土总面积约为 $3.6 \times 10^7 \text{ hm}^2$, 约占全国可利用土地面积 4.88%^[1]。盐渍土不利于植株生长,影响农作物产量,并对生态环境有巨大的破坏能力,而植物的种植对盐渍土的改良和生态环境的改善有重要的作用。潘书轩等^[2]研究表明在盐碱土上种植盐地碱蓬,能通过收获地上部分降低土壤盐分,达到改良盐碱土的目的;谢文军等^[3]报道,种植田菁能够显著降低重度盐渍化土壤含盐量、容重,从而达到改良重度盐渍化土壤的效果。盐渍环境是一种严峻的胁迫环境,对植物的生长、发育、繁殖以及分布等生理生态特征有着重要的影响^[4]。通过研究植物的耐盐生理特性和耐盐能力,对合理利用耐盐植物资源及盐渍化土壤,改善生态环境具有重要的现实意义。

地梢瓜 [*Cynanchum thesioides* (Freyn). K. Schum],别名瓢瓜、地瓜、乔瓜、沙奶奶、女青等,为萝藦科鹅绒藤属的旱生、直立半灌木^[5],既是一种集饲用、药用、食用及工业原料于一体的植物,又是一种非常好的水土保持牧草^[6-7],具有重要的经济和生态价值。目前地梢瓜的研究集中在组织培养^[8]、人工驯化^[7]、化学成分^[9]、含量测定与质量标准^[10]等方面,而关于温度及盐胁迫对地梢瓜萌发影响的研究未见报道。对于大多数植物来说,种子萌发是植物生长周期的重要阶段,此期间的生长极易受到周围环境的影响,而温度和盐分均是影响种子萌发的主要环境因素^[11-12]。适宜的萌发温度是种子萌发所必需的环境条件之一,摸清地梢瓜种子萌发的适宜温度对指导其地梢瓜生产实践具有重要意义,而种子萌发期间的耐盐胁迫能力对于地梢瓜生长和分布极其重要。因此,本试验拟探讨不同温度及 NaCl 浓度胁迫下地梢瓜种子萌发和抗氧化酶活性的变化特征,探明其适宜萌发温度及耐盐适宜浓度,为在中国盐渍化土壤上合理开展地梢瓜引种栽培试验和选

择适宜的播种季节提供参考,并为进一步研究地梢瓜对盐胁迫的适应能力奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

地梢瓜种子采自内蒙古农业大学土默特左旗试验基地,千粒重为(8.91±0.30) g,含水量为(4.11±0.16)%。

1.2 材料培养与处理

选取饱满的地梢瓜种子,用 2% NaClO 消毒 15 min,蒸馏水冲洗 3 次,然后用吸水纸吸干。种子均匀地放入铺有双层滤纸的培养皿中,放入黑暗的恒温培养箱培养。试验分温度和盐分处理两个部分。(1)温度处理:地梢瓜种子最适萌发温度的筛选。将恒温培养箱的温度分别设置为 5、10、15、20、25、30、35、40 和 45 ℃进行种子的萌发试验,第 7 天萌发结束,处理液为蒸馏水。每个处理 100 粒种子,3 次重复,依据萌发率确定最适萌发温度;然后,将萌发第 7 天后各温度处理未萌发的种子置于最适萌发温度的恒温培养箱进行 7 d 恢复萌发。(2)盐分处理:盐胁迫下地梢瓜种子萌发情况。共设 6 个处理,分别为 0(CK,蒸馏水)、50、100、150、200 和 300 $\text{mmol} \cdot L^{-1}$ NaCl 溶液,将消毒过的种子置于温度处理中筛选的最适萌发温度、黑暗恒温培养箱中培养。每个处理 100 粒种子,3 次重复;然后,在萌发第 7 天后,将各盐分处理未萌发的种子用蒸馏水冲洗后重新放入培养皿中,加入蒸馏水进行 7 d 恢复萌发试验,调查解除盐胁迫后种子的恢复萌发情况。上述种子萌发试验均以种子露白作为萌发开始。每天记录萌发的种子数,第 3 天统计萌发势,第 7 天统计萌发率,第 14 天统计恢复萌发率,并计算萌发指数。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 种子萌发指标

依据温度处理中萌发和恢

复萌发试验结果计算种子萌发指标,具体指标及其公式如下:

$$\text{萌发势} = \frac{\text{第3天萌发种子数}}{\text{试验种子数}} \times 100\%;$$

$$\text{萌发率} = \frac{\text{第7天萌发种子数}}{\text{试验种子数}} \times 100\%;$$

$$\text{恢复萌发率} = \frac{\text{恢复萌发的种子数}}{\text{处理后未萌发的种子数}} \times 100\%;$$

$$\text{恢复萌发势} = \frac{\text{恢复萌发第3天萌发种子数}}{\text{处理后未萌发的种子数}} \times 100\%;$$

$$\text{最终萌发率} = \frac{\text{总萌发种子数}}{\text{试验种子数}} \times 100\%;$$

$$\text{相对萌发率} = \frac{\text{各处理最终的萌发率}}{\text{对照组的萌发率}} \times 100\%;$$

$$\text{活力指数(VI)} = S \times \sum Gt/Dt (S \text{ 为种子萌发后的平均鲜重}, \sum Gt/Dt \text{ 为种子萌发指数});$$

$$\text{萌发速率} = \frac{1}{\text{最终萌发率的 } 50\% \text{ 所需要的时间的倒数}};$$

1.3.2 耐盐指标 依据盐分处理中萌发和恢复萌发试验结果计算种子耐盐指标,具体指标及其公式如下:

$$\text{相对盐害率} (\%) = \frac{(\text{对照萌发率} - \text{处理萌发率})}{\text{对照萌发率}} \times 100\%;$$

$$\text{耐盐适宜浓度(适宜值)} = \text{萌发率达到对照萌发率 } 75\% \text{ 时相对应的盐液浓度}^{[14]};$$

$$\text{耐盐半数抑制浓度(临界值)} = \text{萌发率达到对照萌发率的 } 50\% \text{ 时相对应的盐液浓度}^{[14]};$$

1.3.3 生理指标 盐分处理选取萌发第7天的种

子测定超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)^[15]和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性^[16]以及丙二醛(MDA)含量^[15]、超氧阴离子自由基(O_2^-)产生速率^[17]等指标。其中,SOD活性测定采用NBT(氮蓝四唑)法;CAT活性测定采用紫外分光光度计法;POD活性测定用愈创木酚法;APX活性测定采用紫外分光光度计法; O_2^- 产生速率测定采用盐酸羟胺法;MDA含量测定用硫代巴比妥酸显色法;根系活力的测定采用萘胺氧化法,被氧化的萘胺越多,根系活力越强^[15]。

1.4 数据分析

试验数据采用Excel 2007 处理和作图,采用SPSS17.0 进行回归、相关性及方差分析,以Duncan's 新复级差法比较不同处理间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 温度对地梢瓜种子萌发的影响

由表1可知,当温度在10~45℃内,随着温度的升高,地梢瓜种子的萌发率、萌发势、活力指数、胚根长和胚轴长均呈先升高后降低的趋势。其中,萌发率在20~30℃处理下较高并显著高于其他处理($P < 0.05$);其萌发势、活力指数和萌发速率均在25℃时最高并显著高于其他处理,20和30℃时次之;其胚根和胚轴长均在30℃培养下最高并显著长于其他处理,25℃时次之。由此可见,25℃为地梢瓜种子萌发最佳温度;当温度低于10℃,不利于种子的萌发,其萌发率为0;当温度高于30℃,地梢

表1 不同温度下地梢瓜种子萌发情况

Table 1 The seed germination of *C. thesioides*(Freyn). K. Schum under different temperature conditions

温度 Temperature/℃	萌发率 Germination ratio/%	萌发势 Germination potentially/%	活力指数 Vigor index	胚轴长 Hypocotyl length/cm	胚根长 Radicle length/cm	萌发速率 Reciprocal of germination ratio
5	0e	0e	0e	0e	0f	0e
10	0e	0e	0e	0e	0f	0e
15	67.00±0.12b	27.46±0.75c	1.27±0.53d	0.30±0.25de	0.39±0.19d	0.25±0.06c
20	90.91±0.07a	52.72±1.01b	2.16±1.48c	0.90±0.37b	0.98±0.32c	0.33±0.02b
25	96.00±0.04a	66.45±0.84a	8.13±0.64a	0.91±0.50b	1.25±0.27b	0.50±0.10a
30	89.00±0.09a	28.22±0.67c	5.23±1.58b	2.68±0.14a	2.20±0.19a	0.25±0.03c
35	31.00±0.08c	13.50±1.13d	0.29±0.20e	0.69±0.10c	0.44±0.35d	0.25±0.08cd
40	20.00±0.12d	11.71±0.50d	0.20±0.15e	0.54±0.01cd	0.36±0.12de	0.17±0.06d
45	0e	0e	0e	0e	0f	0e

注:同列不同小写字母表示处理间在0.05水平存在显著性差异;下同

Note: The normal letters within the same column show significant difference among treatments at 0.05 level; The same as below

表 2 地梢瓜种子在 25 ℃最适温度下的恢复萌发情况

Table 2 The seed germination recovery of *C. thesioides*(Freyn). K. Schum under the optimum temperature at 25 ℃

温度 Temperature / °C	恢复萌发率 Recovery germination ratio/%	恢复萌发势 Recovery germination potentiality/%	胚根长 Radicle length/cm	胚轴长 Hypocotyl length/cm	活力指数 Vigor index	最终萌发率 Total germination ratio/%
5	95.90±0.03a	42.31±0.66c	1.3±0.47b	1.51±0.12bc	2.70±0.78b	95.90±0.03a
10	76.51±1.13b	48.52±1.32bc	0.45±0.08d	1.45±0.19c	2.31±0.71c	77.42±1.45b
15	72.73±0.17b	43.71±1.18c	1.35±0.39b	1.86±0.94b	1.15±0.17de	90.00±0.07a
20	0d	0e	0e	0d	0e	90.91±0.07a
25	0d	0e	0e	0d	0e	96.00±0.04a
30	0d	0e	0e	0d	0e	89.00±0.09a
35	100.0a	98.24±0.54a	2.51±0.47a	2.83±0.50a	10.83±1.38a	96.00±0.03a
40	47.95±0.06c	25.78±0.59d	0.87±0.24c	1.59±0.48bc	1.32±0.30d	64.00±0.07c
45	0d	0e	0e	0d	0e	0d

表 3 NaCl 胁迫下地梢瓜种子萌发指标的变化

Table 3 The seed germination of *C. thesioides*(Freyn). K. Schum under NaCl stress

NaCl 浓度 Concentration / (mmol · L ⁻¹)	萌发率 Germination ratio/%	萌发势 Germination potentiality/%	活力指数 Vigor index	根系活力 Root vigor / (μg · g ⁻¹ · h ⁻¹)	相对盐害率 Relative salt injury rate/%
0	97.07±2.52a	90.13±2.52a	154.84±8.32a	0.24±0.01a	0f
50	74.53±1.53b	55.47±3.06b	59.72±4.51b	0.26±0.03a	23.10±0.04e
100	66.73±2.89c	42.47±3.06c	13.56±1.30c	0.23±0.02a	31.30±0.02d
150	56.77±3.06d	29.03±3.51d	4.91±0.81d	0.13±0.01b	41.60±0.02c
200	7.80±2.00e	3.03±1.53e	0d	0c	92.00±0.02b
300	0e	0e	0d	0c	100a

瓜的萌发率急剧下降,当温度高于 45 ℃其萌发率为零,说明高温对种子萌发有抑制作用。

将各处理未萌发的地梢瓜种子在 25 ℃最适温度下进行恢复萌发试验,结果如表 2 所示。其中,5 ℃低温处理种子恢复萌发率能达到 95.90%,说明低温处理对种子没有伤害;经 35 ℃处理的种子恢复萌发率为 100%,恢复萌发势为 98.24%,说明 35 ℃不仅对种子没有伤害,而且能够提高种子的萌发率和萌发整齐度;当温度高于 45 ℃时,种子不能恢复萌发,说明 45 ℃及以上高温对种子造成了严重的伤害,且伤害是不可逆的。同时,恢复萌发种子的胚根长、胚轴长和活力指数也均在 35 ℃培养下显著高于其他处理($P < 0.05$),即 35 ℃的温度处理可以促进地梢瓜种子的恢复萌发。

2.2 NaCl 胁迫对地梢瓜种子萌发的影响

随着 NaCl 浓度的升高,地梢瓜种子的萌发率、萌发势、活力指数均呈显著下降趋势($P < 0.05$),而其相对盐害率呈增加趋势,且当 NaCl 浓度为 300 mmol · L⁻¹时,其萌发率为 0,相对盐害率为 100%,

种子的萌发完全受到抑制,说明 NaCl 处理对地梢瓜种子萌发具有显著抑制作用(表 3)。同时,当 NaCl 浓度低于 100 mmol · L⁻¹,地梢瓜种子根系活力没有明显变化;当浓度为 150 mmol · L⁻¹,根系活力显著下降($P < 0.05$);而浓度大于 200 mmol · L⁻¹时,根系活力已降为 0。可见,低浓度 NaCl 对地梢瓜种子根系活力没有影响,而高浓度具有显著的抑制作用($P < 0.05$)。

另外,表 4 显示,在解除 NaCl 胁迫后,地梢瓜可以恢复萌发,且种子的恢复萌发率、恢复萌发势均随 NaCl 浓度的增加呈现先增加后减小的趋势,并以 200 mmol · L⁻¹ NaCl 处理种子的恢复萌发率达最高,其次为 300 mmol · L⁻¹ NaCl 处理。但是,地梢瓜最终萌发率还是随着 NaCl 胁迫浓度的增加而逐渐显著降低。说明地梢瓜种子虽然在解除盐胁迫后可以一定程度上恢复萌发,但其最终依然受到盐胁迫的显著抑制,且盐浓度越高抑制越严重。

2.3 NaCl 处理对地梢瓜种子抗氧化酶系统的影响

2.3.1 抗氧化酶活性 随着 NaCl 胁迫浓度增加,

地梢瓜种子中 SOD 活性表现出先减小后增加再减小的变化趋势，并在 NaCl 浓度为 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时最大，但各处理与对照间差异均不显著(图 1,A)；同时，种子中 CAT 活性随着浓度的增加呈先增加后减小的变化趋势，并当 NaCl 浓度为 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最大值($0.163 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)，且各处理均不同程度高于对照，但仅在 150 和 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到显著水平(图 1,B)；种子中 POD 活性在各盐浓度胁迫下均不同程度低于对照，但仅当 NaCl 浓度为 $200, 300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时差异达到显著水平(图 1,C)；另外，随着 NaCl 浓度的升高，种子中 APX 活性先升高后降低，当 NaCl 浓度为 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

• L^{-1} 时达到最大值，但仅当 NaCl 浓度为 $200, 300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时显著低于对照($P < 0.05$)，其余处理均与对照无显著差异(图 1,D)。

2.3.2 O_2^- 生成速率和 MDA 含量 图 2 显示，地梢瓜种子中的 O_2^- 生成速率在 NaCl 浓度低于 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时没有显著变化，当浓度达到 200 和 $300 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时显著增加，并显著高于对照($P < 0.05$)；同时，随着 NaCl 浓度的升高，种子中 MDA 含量均呈逐渐显著上升的趋势，且各处理间差异显著($P < 0.05$)。

以上结果说明，NaCl 浓度达到一定时，地梢瓜种子内的抗氧化酶活性降低，导致活性氧的水平升高，

表 4 NaCl 胁迫下地梢瓜种子恢复萌发情况

Table 4 The seed germination recovery of *C. thesioides*(Freyn). K. Schum under NaCl stress

NaCl 浓度 Concentration/(mmol · L ⁻¹)	恢复萌发率 Recovery germination ratio/%	恢复萌发势 Recovery germination potentiality/%	最终萌发率 Total germination ratio/%
0(CK)	0f	0d	$97.07 \pm 1.22\text{a}$
50	$1.54 \pm 1.15\text{e}$	$1.54 \pm 1.41\text{d}$	$76.07 \pm 0.45\text{b}$
100	$6.15 \pm 4.99\text{d}$	$6.15 \pm 2.39\text{c}$	$72.88 \pm 1.55\text{c}$
150	$14.62 \pm 1.09\text{c}$	$7.69 \pm 1.01\text{c}$	$71.39 \pm 0.82\text{c}$
200	$42.31 \pm 3.15\text{a}$	$23.08 \pm 0.32\text{a}$	$50.11 \pm 1.88\text{d}$
300	$40.00 \pm 2.98\text{b}$	$16.15 \pm 1.56\text{b}$	$40.00 \pm 0.91\text{e}$

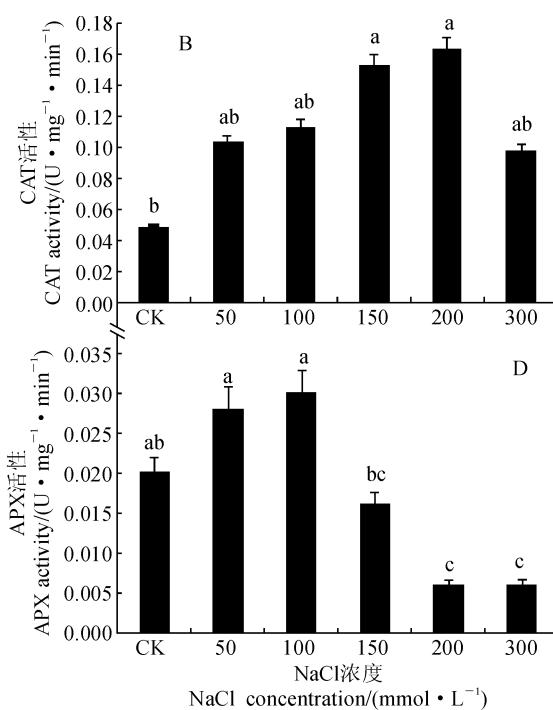
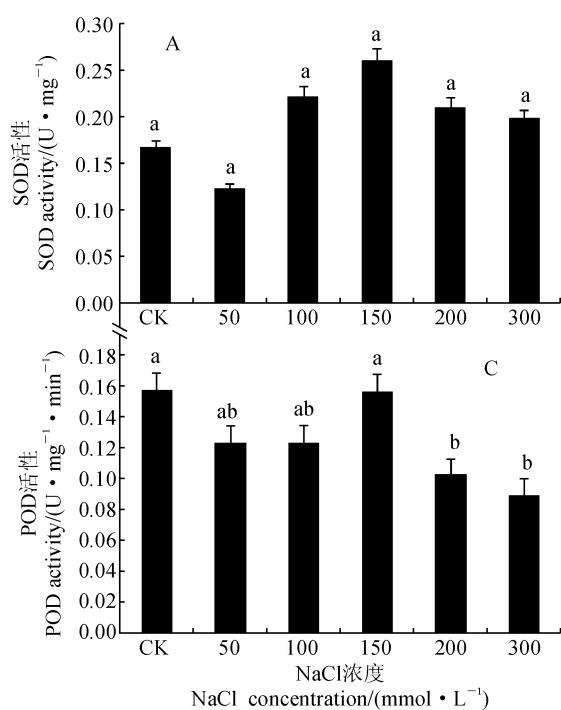


图 1 NaCl 胁迫下地梢瓜种子 SOD、CAT、POD 和 APX 活性的变化

Fig. 1 The changes of SOD, CAT, POD and APX activities in seed of *C. thesioides*(Freyn). K.

Schum under NaCl stress

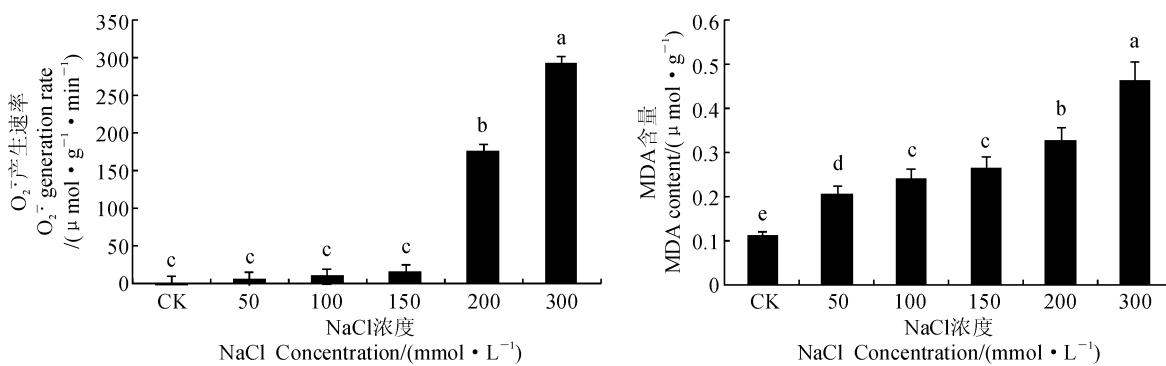
图 2 NaCl 胁迫下地梢瓜种子 O₂⁻ 生成速率和 MDA 含量的变化Fig. 2 The changes of O₂⁻ generation rate and MDA in seed of *C. thesioides*(Freyn), K. Schum under NaCl stress

表 5 萌发温度回归分析估计地梢瓜种子萌发的温度阈值

Table 5 Regression analysis of germination temperature to estimate seed germination temperature threshold

回归方程	Regression equation	决定系数 R ²	最低温度 T _b /℃	最适温度 T _o /℃	最高温度 T _c /℃
Y=0.0266X-0.183(T _b)		0.940	6.9	24.1	47.2
Y=-0.0198X+0.936(T _c)		0.921			

注:X 为温度;Y 为萌发速率

Note: X is temperature; Y is the reciprocal of the germination rate

表 6 地梢瓜种子相对萌发率与 NaCl 浓度的回归分析

Table 6 Correlation between NaCl concentration and relative seed germination percentage of *C. thesioides* (Freyn), K. Schum

回归方程	决定系数 R ²	耐盐适宜浓度 The appropriate content of salt-tolerant/(mmol · L⁻¹)	耐盐半数抑制浓度 Half salt tolerance inhibitory concentration/(mmol · L⁻¹)
Y=0.989-0.004X	0.916	65.25	125.91

注:Y 为种子的相对萌发率;X 为 NaCl 浓度

Note: Y is the relative germination rate of seed; X is NaCl concentration

使种子不能正常进行生长代谢。

2.4 地梢瓜种子萌发与温度、盐胁迫及其抗氧化酶系统的关系分析

首先,由表 5 可知,温度与萌发速率的回归方程为 $Y = 0.0266X - 0.183 (R^2 = 0.940)$ 和 $Y = -0.0198X + 0.936 (R^2 = 0.921)$,通过回归方程可以看出,地梢瓜种子最适萌发温度(T_o)为 24.1 ℃,能忍受的最低(T_b)和最高温度(T_c)分别为 6.9 ℃ 和 47.2 ℃。再综合表 1 和表 5 可知,温度在 6.9 ~ 24.1 ℃ 内,种子萌发速率随温度升高而升高,且与萌发温度呈显著线性正相关($P < 0.05$),此温度范围为地梢瓜种子的亚适宜温度;相反,在 24.1 ~ 47.2 ℃ 范围内,种子萌发速率随温度升高而降低,且二者呈显著线性负相关($P < 0.05$),此温度范围为地梢瓜种子的超适宜温度。

其次,进一步将地梢瓜种子的相对萌发率与相

应的 NaCl 浓度进行回归分析(表 6),得到回归方程 $Y = 0.989 - 0.004X (R^2 = 0.916)$ 。结果表明,地梢瓜种子的相对萌发率与 NaCl 浓度之间呈显著线性负相关($R^2 = 0.916, P < 0.05$),种子的耐盐适宜浓度为 65.25 mmol · L⁻¹,耐盐半数抑制浓度为 125.92 mmol · L⁻¹。

另外,将 NaCl 胁迫下地梢瓜种子的萌发率和活力指数与其抗氧化酶系统各指标间作相关性分析,结果(表 7)表明,种子的萌发率与其 POD、APX 活力呈显著正相关($P < 0.05$),而与其 O₂⁻ 生成速率、MDA 含量呈显著负相关;种子的活力指数与其 CAT 活力呈显著负相关($P < 0.05$);种子的 O₂⁻ 生成速率与其 POD、APX 活力呈显著负相关,与 MDA 含量呈显著正相关。由此可见,保护酶 POD 与 APX 在盐胁迫下地梢瓜种子萌发过程中起主要作用。

表 7 盐胁迫下的萌发率和活力指数与各指标间的相关分析

Table 7 Correlation analysis between germination ratio and vigor index and other indexes under salt stress

指标 Index	萌发率 Germination ratio	活力指数 Vigor index	SOD	CAT	POD	APX	MDA	O ₂ ⁻ 生成速率 O ₂ ⁻ generation rate
萌发率 Germination ratio	1.000							
活力指数 Vigor index	0.756	1.000						
SOD	-0.327	-0.578	1.000					
CAT	-0.546	-0.817*	0.594	1.000				
POD	0.827*	0.587	0.120	-0.248	1.000			
APX	0.817*	0.358	-0.326	-0.338	0.464	1.000		
MDA	-0.943*	-0.789	0.336	0.432	-0.808	-0.695	1.000	
O ₂ ⁻ 生成速率 O ₂ ⁻ generation rate	-0.924*	-0.498	0.119	0.188	-0.832*	-0.833*	0.905*	1.000

注: * 表示在 0.05 水平上显著相关

Note: * stands for correlation is significant at the 0.05 level

3 讨 论

3.1 地梢瓜种子萌发对温度的响应

温度是影响种子萌发的重要环境因素之一,不仅可以打破种子的休眠,而且能改变其休眠形式^[11]。根据前人研究结果,萝藦科植物萝藦在中国地理分布与地梢瓜的相似,但它的最适萌发温度为 20 ℃/30 ℃变温^[18],而最低温度(T_b)作为植物长期适应该地区气候条件的结果,常用于植物生态适应性研究或指导生产实践^[19],且最低温度越小,表明种子耐低温能力越强。本研究中,地梢瓜种子最适宜的萌发温度为 24.1 ℃,最低的萌发温度平均值是 6.9 ℃,这可能与种子适应当地的气候有关。达茂黄芪种子萌发的最低温度为 0.2 ℃^[20],生产中一般选择 3 月下旬和 4 月上旬进行播种,而地梢瓜的种植一般选择在 5 月上旬进行播种。由此可见,种子的萌发温度与生长环境和种子本身都相关。

3.2 NaCl 对地梢瓜种子萌发的抑制效应

盐胁迫是全球普遍存在的一种非生物胁迫,是限制植物生长和发育的主要环境因素。种子萌发期是植物生活史中对盐胁迫十分敏感的时期,植物能否在盐碱环境中生存,首先取决于它能否萌发、萌发率的高低以及萌发速度的快慢^[21]。综合萌发势、活力指数与萌发率能更全面地反映种子萌发期的耐盐能力^[22]。本试验结果表明,随 NaCl 浓度的升高,地梢瓜种子的萌发率、萌发势、活力指数均呈下降趋势,说明 NaCl 对地梢瓜种子的萌发具有明显抑制作用,这与努尔帕提曼·买买提热依木等^[23]对新疆北部 4 种十字花科短命植物绵果芥、厚壁芥、涩芥、四齿芥的研究结果相一致。当 NaCl 浓度为 300

mmol · L⁻¹时,其萌发率为 0,但是对未萌发的种子进行复水解除盐胁迫后仍然有部分种子萌发,萌发率达到 40%,说明在一定 NaCl 浓度范围内较高浓度的盐增加了溶液的渗透势,使得细胞吸水困难,从而使种子进入强迫性休眠状态,阻止了萌发进程,但是并没有使种子失去生活力,当给予适宜的环境条件时种子可以继续萌发,这与姜云天等^[24]研究结果一致。所以,播种后适时地浇水可以缓解盐胁迫对种子萌发的影响。车文峰等^[25]将全盐质量分数为 0.3%~0.6% 视为中度盐碱地,本试验通过对地梢瓜种子进行耐盐能力分析,发现其种子的耐盐适宜浓度为 65.25 mmol · L⁻¹,即含盐量为 0.38%,可见地梢瓜种子适宜在中度盐碱地下萌发生长。另外,相对盐害率的大小反映了盐溶液对种子萌发率的影响程度,相对盐害率的数值越大说明种子受到的伤害越重,越不易萌发和生长。本试验中,随 NaCl 溶液浓度的增大地梢瓜种子的相对盐害率呈增大趋势,这与卢艳敏^[26]的研究结果相同。

3.3 地梢瓜种子抗氧化酶活性对 NaCl 胁迫的响应特征

SOD、POD、CAT、APX 是酶促系统中的重要组成成分,它们的协同作用可以将植物体内的活性氧维持在较低的水平,以保证其正常的生长代谢,是植物忍耐体内高浓度盐胁迫的机理之一^[27]。在本研究的 NaCl 胁迫初期,植物体内的活性氧清除系统被激活,表现为 CAT、APX 在不同浓度 NaCl 胁迫下均升高,而 SOD、POD 活性变化不显著,这与贾新平等^[28]的研究结果有所差异,他的研究表明随着盐胁迫程度的加剧,海滨雀稗叶片中的 SOD 和 POD 活性呈先升高后下降的趋势,可能是因为所研

究的物种和器官不同,海滨雀稗研究的是叶片,而地梢瓜的是种子。本研究盐胁迫下在种子萌发过程中起到主要作用的保护酶是 POD 与 APX。另外,植物在逆境胁迫过程中,细胞内自由基代谢的平衡被破坏,导致丙二醛(MDA)含量增加^[29]。MDA 的含量反映了植物受到逆境伤害的程度。本试验中,随着 NaCl 浓度的升高,地梢瓜种子 O₂⁻ 生成速率、MDA 含量均上升,膜质过氧化系统作用加强,这与丛丽丽等^[30]研究结果有所不同,其结果表明薊草丙二醛含量在低盐浓度下反而比对照更低,而在高盐浓度下呈上升趋势,这可能是因为薊草有自身的抗膜质过氧化机制或同其他机制相互作用,从而保护

膜系统的完整性,而地梢瓜与之不同。

综上所述,地梢瓜种子萌发的最适温度为 25 ℃,其种子萌发在 NaCl 胁迫条件下受到了抑制,耐盐适宜浓度为 65.25 mmol · L⁻¹ (含盐量为 0.38%)。种子萌发是一个复杂的生理过程,由于该研究是在试验室内控制外界环境因子、温度比较单一、单盐胁迫处理进行的种子萌发试验,其与实际种植情况存在差别。在实际种植中,由于减少或避免了单盐毒害作用,地梢瓜的耐盐阈值可能会提高,本研究结果可为盐碱地植物品种的选择提供理论参考,今后关于种子耐盐特性和耐盐机制仍需进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 杨劲松.中国盐渍土研究的发展历程与展望[J].土壤学报,2008, 45(5):837-845.
YANG J S. Development and prospect of the research on salt-affected soils in China[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2008, 45(5):837-845.
- [2] 潘书轩,孙良斌,张少民,等.盐地碱蓬在北疆的生育规律及其对盐渍土改良效果[J].西北农业学报,2014, 23(12):201-206.
FAN S X, SUN L B, ZHANG S M, et al. Growth regularity of *Suaeda salsa* L. and its effects on salt soil improvement in the Northern Xinjiang[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Orientalis Sinica*, 2014, 23(12):201-206.
- [3] 谢文军,王济世,靳祥旭,等.田菁改良重度盐渍化土壤的效果分析[J].中国农学通报,2016, 32(6):119-123.
XIE W J, WANG J S, JIN X X, et al. Effect of *Sesbania canabina* Cultivation on severe salinity soil fertility improvement [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2016, 32(6):119-123.
- [4] 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.
YAN S G, SHEN Y Y. Effects of ecological factors on salt-tolerance of *Puccinellia tenuiflora* seeds during germination [J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 1996, 20(5):414-422.
- [5] 钱崇澍,陈焕镛.中国植物志[M].北京:科学出版社,1959.
- [6] 荀占平,杨永建,赵汝能.甘肃鹅绒藤属药用植物学名订正[J].西北药学杂志,2001,16(2):56-57.
GOU Z P, YANG Y J, ZHAO R N. Revision of Latin names of the medicinal plants of genus *Cynanchum* in Gansu Province [J]. *Northwest Pharmaceutical Journal*, 2001, 16(2):56-57.
- [7] 陈叶,梁军,罗光宏.水土保持植物地梢瓜驯化研究初探[J].林业实用技术,2008, (2):35-36.
CHEN Y, LIANG J, LUO G H. Preliminary study on domes-
- tation of *Cynanchum thesioides* (Freyn) K. Schum. in soil and water conservation [J]. *Forestry Practical Technology*, 2008, (2):35-36.
- [8] 贝盖临,曹有龙,李晓莺,等.地梢瓜的组织培养及快速繁殖[J].植物生理学通讯,2005, 41(4):496.
BEI Z L, CAO Y L, LI X Y, et al. Tissue culture and rapid propagation of *Cynanchum thesioides* (Freyn) K. Schum. [J]. *Plant Physiology Journal*, 2005, 41(4):496.
- [9] 苑辉卿,左春旭.地梢瓜化学成分的研究[J].药学学报,1992, 27(8):589-594.
YUAN H Q, ZUO C X. Studies of the chemical constituents of *Cynanchum thesioides* [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 1992, 27(8):589-594.
- [10] 余婉佳,常福厚,解红霞,等.蒙药材地梢瓜的质量标准研究[J].中南药学,2014, 12(9):918-921.
YU W J, CHANG F H, XIE H X, et al. Quality standard of *Cynanchum thesioides* (Freyn) K. Schum. [J]. *Central South Pharmacy*, 2014, 12(9):918-921.
- [11] ROBERTS E H. Temperature and Seed Germination[M]. *Symposia of the Society for Experimental Biology*, 1988, 42:109-132.
- [12] AL-KHATEEB S A. Effect of salinity and temperature on germination, growth and ion relations of *Panicum turgidum* Forsk [J]. *Bioresource Technology*, 2006, 97: 292~298.
- [13] 黑银秀,朱良其,刘君,等.利用模型方法研究西兰花种子萌发的温度特性[J].中国农学通报,2016, 32(13):49-55.
HEI Y X, ZHU L Q, LIU J, et al. Study on temperature characteristics of broccoli seed germination using modeling approach [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2016, 32(13):49-55.
- [14] 聂江力,裴毅,冯丹丹. NaCl 和 NaHCO₃ 胁迫对车前种子萌发的影响[J].北方园艺,2015, (5):25-28.
NIE J L, PEI Y, FENG D D. Effect of NaCl and NaHCO₃ stress on seed germination of *Plantago asiatica* L. [J]. *Northern Horticulture*, 2015, (5):25-28.

- [15] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 260-261.
- [16] NAKANO Y, ASADA K. Hydrogen peroxidase is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. *Plant Cell Physiology*, 1981, 22: 867.
- [17] ELSTNER E F, HEUPEL A. Inhibition of nitrite formation from hydroxylammoniumchloride: a simple assay for superoxide dismutas[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 70(2): 616-620.
- [18] 李龙, 李青丰, 苏秋霞. 萝藦种子萌发检验标准化研究[J]. 种子, 2014, 33(2): 115-117.
- LI L, LI Q F, SU Q X. Standardization for seed germination testing of *Metaplexis japonica* L. [J]. *Seed*, 2014, 33(2): 115-117.
- [19] ALVARADO V, BRADFORD K J. A hydrothermal time model explains the cardinal temperatures for seed germination [J]. *Plant Cell and Environment*, 2002, 25(8): 1 061-1 069.
- [20] 鲁小名. 利用积温模型对四种药用植物种子萌发的模拟和预测[D]. 西安: 西北农林科技大学, 2012.
- [21] XIAO-YAN XU, RUI FAN, RUI ZHENG, 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] 刘玉艳, 王辉, 于凤鸣, 等. 盐胁迫对二色补血草种子萌发的影响[J]. 生态学杂志, 2009, 28(9): 1 794-1 800.
- LIU Y Y, WANG H, YU F M, et al. Effects of salt stress on *Limonium bicolor* seed germination[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2009, 28(9): 1 794-1 800.
- [23] 努尔帕提曼·买买提热依木, 齐曼·尤努斯, 谭敦炎. 盐胁迫对4种短命植物种子萌发及植株生长的影响[J]. 西北植物学报, 2011, 31(8): 1 618-1 627.
- NU R PA TI MA Mamatriyim, QI MAN Y un u s, TAN D Y. Seed germination and plant growth of four ephemeral species under salt stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2011, 31(8): 1 618-1 627.
- [24] 姜云天, 张丽娜, 顾地周, 等. 盐胁迫对茶花凤仙种子萌发的影响[J]. 东北林业大学学报, 2014, 42(3): 37-41.
- JIANG Y T, ZHANG L N, GU D Z, et al. Effect of salt stress on seed germination of *Impatiens balsamina* L. [J]. *Journal of Northeast Forestry University*. 2014, 42(3): 37-41.
- [25] 车文峰, 李帅, 穆光远. 山西省盐碱地资源调查研究及其开发利用[J]. 科技情报开发与经济, 2012, 22(1): 106-109.
- CHE W F, LI S, MU G Y. Analysis and consideration about shanxi's government guide fund for venture investment[J]. *Sci-tech Information Development & Economy*, 2012, 22(1): 106-109.
- [26] 卢艳敏. 不同盐胁迫对高羊茅种子萌发的影响[J]. 草业科学, 2012, 29(7): 1 088-1 093.
- LU Y M. Different effects of salt stress on seed germination of tall fescue [J]. *Pratacultural Science*, 2012, 29(7): 1 088-1 093.
- [27] 王穗子, 金则新, 李月灵, 等. 铜胁迫条件下AMF对海州香薷光合色素含量、抗氧化能力和膜脂过氧化的影响[J]. 生态学报, 2015, 35(23): 7 699-7 708.
- WANG S Z, JIN Z X, LI Y L, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on the photosynthetic pigment contents, anti-oxidation capacity and membrane lipid peroxidation of *Elsholtzia splendens* leaves under copper stress[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(23): 7 699-7 708.
- [28] 贾新平, 邓衍明, 孙晓波, 等. 盐胁迫对海滨雀稗生长和生理特性的影响[J]. 草业学报, 2015, 24(12): 204-212.
- JIA X P, DENG Y M, SUN X B, et al. Impacts of salt stress on the growth and physiological characteristics of *Paspalum vaginatum* [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2015, 24(12): 204-212.
- [29] WALTER LARCHER. 植物生态生理学[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1997.
- [30] 丛丽丽, 张蕴薇, 陈新, 等. 盐胁迫对薊草种子萌发与幼苗生理生化的影响[J]. 草业科学, 2011, 28(12): 2 136-2 142.
- CONG L L, ZHANG Y W, CHEN X, et al. Effect of NaCl stress on seed germination and physiological and biochemical characteristics of seedling of *Phalaris arundinacea* [J]. *Pratacultural Science*, 2011, 28(12): 2 136-2 142.

(编辑: 裴阿卫)