

不同种子预处理方法 对提高三树种幼苗耐盐性的效应*

方升佐 曹福亮 戴蒲英

(南京林业大学森林资源与环境学院, 南京 210037)

摘要 刺槐 (*Robinia pseudoacacia* Linn.)、湿地松 (*Pinus elliottii* Engelm.) 和侧柏 [*Platycladus orientalis* (L.) Franco] 种子经 0.3% CaCl_2 , 250 $\mu\text{g/g}$ H_3BO_3 和 250 $\mu\text{g/g}$ 多效唑 (MET) 浸种 24 h, 然后测定幼苗的耐盐性。结果表明, 在 0.3% NaCl 胁迫条件下, 不同种子预处理方法对种子发芽率、平均苗高、根茎比、简易活力指数 (SVIS) 以及幼苗中 Na^+ 与 K^+ 的累积量、 Na^+/K^+ 比及游离脯氨酸含量有较大影响。树种不同, 处理效果也存在明显差异。湿地松以 0.3% CaCl_2 , 侧柏以 250 $\mu\text{g/g}$ H_3BO_3 浸种处理效果最好, 显著提高种子发芽率、平均苗高、根茎比和 SVIS, 降低幼苗 Na^+ 吸收量和 Na^+/K^+ 比, 缓解盐胁迫逆境。3 种种子预处理方法均降低刺槐种子发芽率、平均苗长和 SVIS, 但提高刺槐幼苗游离脯氨酸含量和幼苗根茎比, 减少幼苗对 Na^+ 的吸收, 降低 Na^+/K^+ 比。
关键词 盐胁迫; 种子预处理方法; 发芽率; 简易活力指数; Na^+/K^+ 比; 脯氨酸

Effects of seed pretreatment methods on improving seedling salt tolerance of three tree species Fang Sheng-Zuo, Cao Fu-Liang and Dai Pu-Ying (College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037), *J. Plant Resour. & Environ.* 1997, 6(1): 35~40

The effects of seed pretreatment methods on improving salt tolerance of the seedlings of 3 tree species were studied after soaking seeds of *Robinia pseudoacacia* Linn., *Pinus elliottii* Engelm. and *Platycladus orientalis* (L.) Franco with 0.3% CaCl_2 , 250 $\mu\text{g/g}$ H_3BO_3 and 250 $\mu\text{g/g}$ multi-effect triazole (MET) for 24 h respectively. The results indicated that various seed pretreatment methods had a great influence on seed germination percentage, average seedling height, root/stem ratio, seed vigour index (SVIS), the contents of Na^+ , K^+ and free proline in seedlings, and Na^+/K^+ ratio under the 0.3% NaCl stress. However, for various tree species, the influence was different. Soaking seeds of *P. elliottii* with 0.3% CaCl_2 and soaking seeds of *P. orientalis* with 250 $\mu\text{g/g}$ H_3BO_3 for 24 h could greatly improve their seed germination percentage, average seedling height, root/stem ratio and SVIS, reduce the contents of Na^+ in seedling and Na^+/K^+ ratio, and lower saline stress. 3 pretreatment methods both lowered seed germination percentage, average seedling height and SVIS of *R. pseudoacacia*, but increased in contents of free proline and root/stem ratio in seedlings, and reduced the accumulation of Na^+ in seedling and Na^+/K^+ ratio.

Key words saline stress; seed pretreatment method; seed germination percentage; SVIS; Na^+/K^+ ratio; free proline

* 林业部重点课题“南方主要造林树种耐旱、耐盐碱能力定量指标评价技术”的部分内容。
收稿日期 1996-08-12

我国大陆海岸线长达 18 000 km, 盐渍土面积相当大, 分布范围涉及 23 个省、市、自治区, 海涂总面积达 $216.6 \times 10^4 \text{ hm}^2$, 已开发利用的面积为 $37.1 \times 10^4 \text{ hm}^2$, 占 17%, 还有大量的海涂资源亟待开发利用, 可供开发利用的后备土地资源潜力很大^[1]。营造和培育各种功能林是海涂开发利用的重要途径之一。生产实践证明, 要使造林后成活、成林、成材并充分发挥各种功能效益的关键是选择耐盐能力强的树种或无性系。不少学者在提高树种的抗盐性上进行了大量研究^[2-4], 本文探讨我国 3 个主要造林树种在 0.3% NaCl 浓度下, 不同种子预处理方法对种子发芽率、简易活力指数、幼苗中游离脯氨酸、 Na^+ 和 K^+ 的吸收与分配的影响, 筛选最适宜的种子预处理方法, 以提高树种的耐盐能力和沿海滩涂地区的造林成活率。

1. 材料与方 法

1.1 材 料

供试材料为耐盐能力较强的刺槐 (*Robinia pseudoacacia* Linn.)、湿地松 (*Pinus elliottii* Engelm.) 和侧柏 [*Platycladus orientalis* (Linn.) Franco] 种子。

1.2 试验设计

用刺槐、湿地松和侧柏种子进行沙培试验。将河沙过筛(筛孔径 3 mm), 自然风干, 置 $24\text{cm} \times 12\text{cm} \times 5\text{cm}$ 的种子发芽盒中, 用 0.3% NaCl 溶液均匀拌至湿润。尔后将已经过预处理的 3 个树种的种子播入沙中, 置于 25°C 的种子发芽箱中进行发芽试验。种子预处理的方法是: 刺槐用 80°C 的温水浸泡 24 h, 自然冷却; 湿地松用 50°C 温水浸泡 24 h, 自然冷却; 侧柏用 25°C 室温水浸泡 24 h。然后将每个树种的种子分别用 0.3% CaCl_2 溶液浸泡 24 h(A); $250 \mu\text{g/g}$ 的 H_3BO_3 溶液浸泡 24 h(B); $250 \mu\text{g/g}$ 的多效唑(MET)溶液浸泡 24 h(C) 及对照(CK, 用自来水浸种), 共 4 个处理, 每处理 300 粒种子。在发芽初期, 每天喷自来水一次至湿润; 种子发芽后, 每 3 d 喷洒浓度为 0.3% 的 NaCl 溶液一次至湿润, 各处理间喷用量相同。

1.3 测定项目和方 法

1.3.1 种子发芽率测定 按林木种子检验方法 GB 2772-81 测定种子发芽率^[5]。

1.3.2 游离脯氨酸含量测定 取鲜样按张殿中等描述的茚基水杨酸法测定脯氨酸含量^[6]。测定时视颜色深浅加适量甲苯进行萃取。

1.3.3 Na^+ 和 K^+ 含量测定 样品消化采用硫酸-高氯酸消煮法^[7], 测定方法采用火焰光度计法^[7]。依据待测液浓度的高低进行稀释后在火焰光度计上测定。

1.3.4 简易活力指数的计算 按简易活力指数(SVIS) = 平均苗长 \times 发芽率的公式计算 SVIS^[8]。

2. 结果与分 析

2.1 不同种子预处理方法对种子发芽率的影响

利用生长调节剂或某些能缓解盐毒害的外界离子处理对提高植物的耐盐性具有重大意义^[2,9]。在 0.3% NaCl 的盐浓度下, 各种种子预处理方法对 3 个树种种子发芽率的影响情况见图 1。

由图 1 可以看出,不同种子预处理方法对 3 个树种种子发芽率有较大影响,处理效果因树种不同而产生较大差异。用 CaCl_2 , H_3BO_3 和 MET 进行种子预处理可以提高在盐胁迫下侧柏种子的发芽率,与未处理(CK)相比,分别提高 34%,16%和 7%;用 CaCl_2 处理的湿地松种子,发芽率也比 CK 明显提高,且种子发芽早而整齐,15 d 时,发芽率就达到种子总发芽数的 95%。但用 H_3BO_3 和 MET 处理湿地松种子后,反而降低了盐胁迫下种子发芽率;经 CaCl_2 , H_3BO_3 和 MET 处理的刺槐种子,在盐逆境下发芽率降低,其中以 MET 处理的发芽率下降最大,仅为 CK 的 36%。上述结果说明,用 0.3% CaCl_2 处理湿地松种子,用 250 $\mu\text{g/g}$ H_3BO_3 处理侧柏种子,缓解了盐胁迫逆境,可以显著提高种子发芽率和发芽速度;而对刺槐而言,3 种种子预处理方法不但不能提高盐胁迫下种子的发芽率,反而抑制了种子的发芽,这是否与刺槐本身具有较强的耐盐能力有关,还是由于经种子预处理后反而加剧了盐胁迫逆境,有待进一步探索。

2.2 不同种子预处理方法对幼苗 Na^+ , K^+ 及游离脯氨酸含量的影响

在盐胁迫条件下,植物对 Na^+ 和 Cl^- 离子的吸收是平行的,所以完全可以用 Na^+ 的含量来说明由 Na^+ 和 Cl^- 共同造成对植物的毒害作用。与 CK 相比(见表 1),经种子预处理后,3 个树种幼苗的地上和地下部分 Na^+ 的累积量减少,而 K^+ 含量增多, Na^+/K^+ 比降低。 Na^+/K^+ 比小,缓解了盐胁迫逆境,说明经种子预处理后,可相对提高 3 个树种幼苗的耐盐性。

在逆境下,植物体内游离脯氨酸含量增加已有较多报道^[2,4,10-12]。本试验表明,在 0.3% NaCl 盐胁迫下,经种子预处理的 3 个树种幼苗游离脯氨酸的累积量表现出不同的趋势(见表 1)。用 CaCl_2 , H_3BO_3 及 MET 处理刺槐种子后,幼苗中游离脯氨酸含量明显比 CK 约高出 3~4 倍;而经种子预处理的湿地松幼苗中游离脯氨酸含量普遍比 CK 低;侧柏种子经 CaCl_2 和 H_3BO_3 预处理后,幼苗游离脯氨酸含量则高于 CK,而经 MET 处理的,幼苗游离脯氨酸含量低于 CK。这可能与树种特性有关,也可能与游离脯氨酸累积的多种作用有关。本文认为,经种子

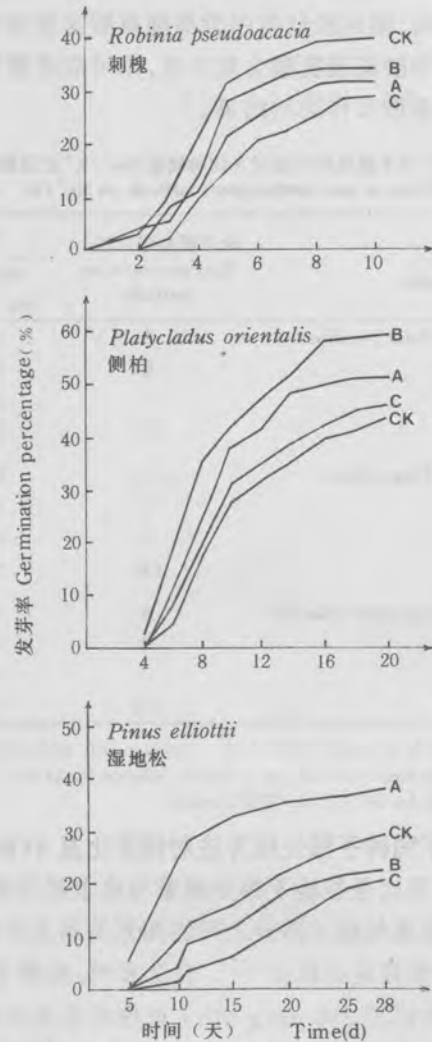


图 1 不同种子预处理方法对 3 个树种种子发芽率的影响
Fig 1 Effects of seed pretreatment methods on seed germination ratio of three tree species

A: 播种前用 0.3% CaCl_2 溶液浸种 24 h; Soaking seeds with 0.3% CaCl_2 solution for 24 h before sowing; B: 播种前用 250 $\mu\text{g/g}$ H_3BO_3 溶液浸种 24 h; Soaking seeds with 250 $\mu\text{g/g}$ H_3BO_3 solution for 24 h before sowing; C: 播种前用 250 $\mu\text{g/g}$ MET 溶液浸种 24 h; Soaking seeds with 250 $\mu\text{g/g}$ MET solution for 24 h before sowing; CK: 对照 Control

预处理后,湿地松幼苗中游离脯氨酸含量降低可能是由于预处理缓解了盐胁迫逆境所致,而刺槐幼苗中游离脯氨酸含量升高,则可能是预处理加剧了盐胁迫逆境,导致游离脯氨酸大量累积而起渗透调节作用的结果。

表1 不同种子预处理方法对3树种幼苗Na⁺/K⁺比及游离脯氨酸含量的影响

Tab 1 Effects of seed pretreatment methods on Na⁺/K⁺ ratio and free proline content of the seedlings of 3 tree species

树种 Tree species	种子预处理方法* Seed pretreatment methods	地上部分 Above-ground parts				根系 Roots		
		Proline ($\mu\text{g/g}$ FW)	Na ⁺ (%)	K ⁺ (%)	Na ⁺ /K ⁺	Na ⁺ (%)	K ⁺ (%)	Na ⁺ /K ⁺
刺槐 <i>Robinia pseudoacacia</i>	A	411	0.65	0.89	0.77	0.47	0.22	2.14
	B	522	0.84	0.88	0.95	0.30	0.20	1.50
	C	393	1.00	0.84	1.19	0.44	0.17	2.59
	CK	141	1.09	0.80	1.36	0.53	0.19	2.70
湿地松 <i>Pinus elliottii</i>	A	423	0.75	0.43	1.74	1.21	0.32	3.97
	B	488	0.95	0.36	2.64	1.22	0.37	3.30
	C	400	0.78	0.51	1.53	1.31	0.29	4.52
	CK	551	1.49	0.39	3.82	1.50	0.30	5.00
侧柏 <i>Platycladus orientalis</i>	A	392	1.29	0.29	4.45	2.53	0.66	3.83
	B	336	1.28	0.43	2.98	2.10	0.59	3.56
	C	315	1.92	0.46	4.21	2.88	1.10	2.62
	CK	335	2.67	0.24	11.13	2.94	0.62	4.74

* A: 0.3% CaCl₂溶液浸种 24 h Soaking seeds with 0.3% CaCl₂ solution for 24 h; B: 250 $\mu\text{g/g}$ H₃BO₃溶液浸种 24 h Soaking seeds with 250 $\mu\text{g/g}$ H₃BO₃ solution for 24 h; C: 250 $\mu\text{g/g}$ MET 溶液浸种 24 h Soaking seeds with 250 $\mu\text{g/g}$ MET solution for 24 h; CK: 对照 Control

2.3 不同种子预处理方法对根茎比及 SVIS 的影响

根茎比是指地下部分鲜重与地上部分鲜重之比,为评价苗木质量的重要指标。有研究表明,从根系与地上部分之间的相互关系去分析植物的耐盐能力是可行的,根茎比值小的植物,其耐盐性往往比较差^[13]。表2表明,经种子预处理后,2个树种的幼苗根茎比都有不同程度提高,尤以经 250 $\mu\text{g/g}$ MET 处理的根茎比值增幅最大,约为 CK 的 1.4~1.9 倍。这可能与 MET 具有抑制植物纵向生长,促进植物的横向生长,提高植株的抗逆性有关。

表2 不同种子预处理方法对3树种幼苗根茎比及简易活力指数的影响

Tab 2 Effects of seed pretreatment methods on root/stem ratio of seedling and seed vigour index of 3 tree species

种子预处理方法 Seed pretreatment method	刺槐 <i>Robinia pseudoacacia</i>			湿地松 <i>Pinus elliottii</i>			侧柏 <i>Platycladus orientalis</i>		
	R/S	ASH	SVIS	R/S	ASH	SVIS	R/S	ASH	SVIS
A	0.13	2.04	0.65	0.09	7.32	2.71	0.18	5.92	3.02
B	0.14	3.20	1.09	0.06	5.57	1.22	0.15	6.11	3.60
C	0.19	1.56	0.22	0.10	4.20	0.84	0.26	4.76	2.24
CK	0.10	3.86	1.51	0.07	5.16	1.44	0.17	4.05	1.78

* A: 0.3% CaCl₂溶液浸种 24 h Soaking seeds with 0.3% CaCl₂ solution for 24 h; B: 250 $\mu\text{g/g}$ H₃BO₃溶液浸种 24 h Soaking seeds with 250 $\mu\text{g/g}$ H₃BO₃ solution for 24 h; C: 250 $\mu\text{g/g}$ MET 溶液浸种 24 h Soaking seeds with 250 $\mu\text{g/g}$ MET solution for 24 h; CK: 对照 Control. R/S: 根茎比 root/stem; ASH: 平均苗长 (cm) Average seedling height; SVIS: 简易活力指数 (cm) Seed vigour index

简易活力指数是评定种子活力的一个重要指标^[8]。它包含了种子发芽期间一系列生物

化学变化,如酶的反应和呼吸强度,种子发芽和幼苗生长速度和整齐度,田间出苗、生长速度和整齐度以及在不同环境条件下种子的出苗能力。活力强度可持续影响植物生长,活力高的种子,可提高田间出苗率和抵御不良的环境条件。本次试验的结果表明(见表2),用0.3% CaCl_2 溶液预处理湿地松种子,可显著提高盐胁迫下种子的活力,约为CK的1.9倍,而用 H_3BO_3 和MET对湿地松进行预处理后,对提高种子活力效果不明显;用 H_3BO_3 , CaCl_2 和MET处理侧柏种子,均能提高盐胁迫下种子的活力,其中以250 $\mu\text{g/g}$ H_3BO_3 处理的效果最佳,0.3 CaCl_2 处理次之,与CK相比,分别提高了2.0倍及1.7倍;但用3种溶液对刺槐种子进行预处理后,不仅不能提高盐胁迫下种子的活力,反而降低了种子的活力,与对种子发芽率的影响一致。种子活力提高,增强了对外界不良环境的适应,相对提高了幼苗的耐盐能力。

3. 讨 论

多效唑(MET)是1976年英国ICI公司研制成功的一种高活性植物生长延缓剂和广谱性杀菌剂,对于多种植物都具有延缓茎叶伸长生长,促进分枝、分蘖和根系的形成,增强植物抗倒伏以及抗寒、抗旱、抗病等抗逆性能的作用。沈惠娟等的研究表明,用MET浸种,提高了刺槐幼苗的相对含水量,减少质膜透性和对生长的抑制,从而提高了刺槐幼苗的耐盐性^[2]。本试验表明,在0.3% NaCl胁迫下,用MET浸种,对3个树种的种子发芽率及幼苗高生长有一定的抑制作用,降低了种子活力,但显著增大幼苗的根茎比,与沈惠娟等人的研究基本一致。这可能与MET有效地抑制内源赤霉素的生物合成,也影响着植物体内生长素、乙烯和脱落酸的含量有关。

盐胁迫对植物的影响,一方面是离子毒害。即过量的有毒 Na^+ 和 Cl^- 对细胞膜系统的伤害,导致细胞膜透性增大,电解质外渗,细胞代谢失调^[2,14];另一方面,在相对较高浓度的 Na^+ 及 Cl^- 离子存在下,干扰了植物对营养元素K及N等的吸收,造成植物体内营养元素亏缺,影响生长发育^[14]。用250 $\mu\text{g/g}$ H_3BO_3 和0.3% CaCl_2 溶液预处理湿地松、侧柏和刺槐种子后,幼苗中 K^+ 吸收量增大, Na^+/K^+ 比降低,这可能与硼、钙离子拮抗钠离子,缓解了单盐毒害有关。苗木根系对 Na^+ 的吸收要比地上部分多,可能是由于苗木根系主动吸收 Na^+ ,维持膨压,加强根系吸水能力所致。至于用 CaCl_2 和 H_3BO_3 预处理刺槐种子后,发芽率和种子活力降低,其原因有待进一步研究。

当植物遭受盐胁迫逆境时,植物体内积累游离脯氨酸,脯氨酸含量的增加与植株水势下降呈负相关,与相对透性增加呈正相关^[12]。许多研究表明,在无盐条件下,游离脯氨酸含量低,而盐浓度增加时,游离脯氨酸含量升高,从而认为脯氨酸累积能力与耐盐性有关^[2,4,10-12]。用 H_3BO_3 , CaCl_2 进行种子预处理的刺槐、侧柏幼苗,在0.3% NaCl胁迫下体内游离脯氨酸含量明显高于未处理的种子。如果说游离脯氨酸含量的增加,维持了细胞内的膨压,保护酶和膜系统免受毒害,增强了植物的抗盐性^[13],那么用 H_3BO_3 和 CaCl_2 预处理种子能提高植物抗盐性还有据可查。然而就湿地松而言,经 H_3BO_3 和 CaCl_2 进行种子预处理的幼苗,其体内游离脯氨酸含量反而比未处理的低,这是否与只有水势下降到一定程度植物体内才积累脯氨酸这一论点有关^[12]。如果真是如此,则说明用 H_3BO_3 和 CaCl_2 预处理湿地松种子后,缓解了盐胁迫逆境,提高了湿地松幼苗的耐盐能力。看来,游离脯氨酸的累积与抗逆性的关系,在高等植物中

可能并不十分简单,这主要在于植物抗逆性的途径是多种多样的。不同植物在不同条件下,不一定通过同一途径来抵抗外界的不良环境。因此,对于脯氨酸在植物抗逆性中的意义要根据植物和环境两个方面作具体分析。

参 考 文 献

- 1 蔡清泉. 我国海涂资源开发利用的现状和展望. 国土与自然资源研究, 1990, (2): 33~37.
- 2 沈惠娟, 梁成喜, 李梅枝. 多效唑浸种提高刺槐幼苗耐盐性研究. 植物学报, 1993, 35(8): 606~610.
- 3 曹福亮, 方升佐. 耐盐杨树新无性系的筛选. 江苏林业科技, 1994, 21(3): 1~5.
- 4 曹福亮, 方升佐, 唐罗忠等. 盐胁迫对杨树新无性系气孔形态、水势和生长的影响. 南京林业大学学报, 1993, 17(增刊): 16~23.
- 5 中华人民共和国编. 林木种子检验方法 GB 2772-81. 北京: 技术标准出版社, 1982.
- 6 张殿忠, 汪沛洪, 赵会贤. 测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法. 植物生理学通讯, 1990, 27(4): 62~65.
- 7 劳家桎主编. 土壤农化分析手册. 北京: 农业出版社, 1988.
- 8 毕辛华, 戴心维主编. 种子学. 北京: 农业出版社, 1993.
- 9 Cramer G R, Epstein E. Effects of NaCl and CaCl₂ on ion activities in complex nutrient solutions and root growth of cotton. Plant Physiol, 1986, 81: 792~797.
- 10 吕芝香, 仲崇信. NaCl 对大米草幼苗游离氨基酸成分和脯氨酸含量的影响. 植物生理学报, 1982, 8(4): 393~398.
- 11 吕芝香, 乙 引. NaCl 对小麦叶片脯氨酸氧化酶活性和游离脯氨酸累积的影响. 植物生理学报, 1992, 18(4): 376~382.
- 12 汤章城. 逆境条件下植物脯氨酸的累积及其可能意义. 植物生理学通讯, 1984, 21(1): 15~21.
- 13 刘友良, 毛才良, 汪良驹. 植物耐盐性研究进展. 植物生理学通讯, 1987, 24(4): 1~7.
- 14 张 臻, 陈 勇, 吕芝香等. NaCl 对碱谷幼苗无机盐离子含量和生长的影响. 植物资源与环境, 1996, 5(2): 19~22.

(责任编辑: 许定发)

杭州植物园 40 周年园庆

1996年10月9日至11日,杭州植物园迎来了40周年园庆,全国28个植物园的代表及美国加州大学戴维斯分校哈丁教授和吴麟博士,共53人参加了此次盛会。杭州市领导和园林局局长也出席了大会。中国科学院植物研究所洪德元院士,国际植物园协会副主席、中国环境科学学会植物园保护分会理事长贺善安研究员等在会上发表讲话,对杭州植物园园庆表示祝贺,肯定了杭州植物园40年来的工作和成绩。

在园庆活动期间,与会代表还进行了学术交流。杭州植物园的裘宝林先生作了《浙江植物区系中一些北方区系成分的分布现象及其初步探讨》的报告;

北京林业大学孙筱祥教授和中国科学院植物所植物园余树勋研究员,向代表们介绍了世界植物园的科普工作和人与植物园的关系;美国哈丁教授,介绍了美国加州大学戴维斯分校园林显花植物,吴麟博士介绍了草坪在美国的发展和利用以及一些草坪的相对耐旱、耐荫、耐磨、耐踩的特性。

大会学术交流之后,重点参观和考察了杭州植物园的杜鹃园、药物园、竹类植物区以及新改建的树木园等。代表们对杭州植物园近年来的变化和发展表示赞赏。

(曾虹)