

文章编号: 1674-7054(2014)01-0036-07

热研5号四倍体与3种柱花草的耐盐性比较分析

吴繁花^{1,2}, 于旭东², 刘芬玲², 白昌军¹, 刘国道¹

(1. 中国热带农业科学院 热带作物品种资源研究所, 海南 儋州 571737; 2. 海南大学 农学院, 海南 海口 570228)

摘要: 柱花草是豆科柱花草属多年生草本植物, 是优良的热带牧草。本试验采用盆栽法对热研5号四倍体、热研2号、热研5号及西卡4种柱花草进行盐胁迫处理, 通过观测其在盐胁迫下的一系列生理生化反应, 并通过综合评价得出其耐盐性强弱, 实验结果表明, 当盐质量百分比为0.90%时, 各生理生化指标开始受到影响, 盐质量百分比达1.20%时各生长指标开始受到明显的影响, 盐质量百分比达到1.80%时, 大部分幼苗受到严重的影响, 开始死亡。综合各项指标表明: 在所选4种柱花草中, 西卡的耐盐性最强, 热研5号四倍体次之, 热研2号耐盐性最差, 4种柱花草在盐质量百分比小于0.90%时均能良好生长, 当盐质量百分比达到1.80%时难以生存, 热研5号四倍体和二倍体的耐盐性没有明显差异。

关键词: 柱花草; 盐胁迫; 综合评价

中图分类号: S 54

文献标志码: A

柱花草(*Stylosanthes*) 又名笔豆花, 属于双子叶植物纲、豆科、柱花草属多年生草本或亚灌木的热带豆科牧草, 天然分布在南美洲、热带北美洲、非洲等地^[1-2]。巴西北部为主要产地, 澳大利亚、新西兰等热带地区也广泛种植, 我国于1962年首次从马来西亚引种到海南岛, 作为橡胶园的覆盖作物^[3], 之后又引种到广西、云南、福建等省栽培^[4]。柱花草怕霜冻, 耐寒性能差, 最适温度为25~28℃, 一般低于10℃时开始受害, 在0℃时叶片脱落, -2.5℃冻死^[5]。对土壤选择不严, 在热带红壤和沙性的灰化土上都可以生长, 耐盐性差, 可抗夏季高温干旱, 能耐受强酸性土壤, 幼苗生长缓慢, 一旦植株封行, 则生长迅速^[6-7]。牧草种植是改良盐碱地的有效途径, 牧草品种的耐盐性鉴定是耐盐育种的基础, 国内外对牧草耐盐性研究主要在发芽期、幼苗期。对碱茅、火绒草、赖草等牧草采用叶片相对含水量、叶片细胞膜透性、游离脯氨酸含量、丙二醛含量、同工酶活性等可作为耐盐指标^[8-9]。但其中任何一种均不宜单独用做耐盐性鉴定指标, 需进行综合评定。本实验对热研5号四倍体、热研5号二倍体、热研2号和西卡4种柱花草进行盐胁迫处理, 通过对4种柱花草的生长指标和生理生化指标的观察及测定, 比较热研5号四倍体柱花草在耐盐性方面是否比其他3种柱花草种质有优越性, 为多倍体柱花草的进一步扩大种植提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料 参试材料的4种柱花草种质, 其中热研5号四倍体种子由课题组诱变获得, 采自2010年秋; 热研2号、热研5号二倍体和西卡的种子由中国热带农业科学院热带作物品质资源研究所提供。

1.2 试验方法

1.2.1 试验处理 挑选籽粒饱满的柱花草种子于塑料育苗盘内催芽, 待萌发后移栽到育苗盆中, 以河沙作为基质, 每盆均匀移栽15棵, 用荷格伦特营养液^[7]浇灌, 待幼苗长出第5~6片叶时疏苗定植, 每盆留

收稿日期: 2013-10-20

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(PZS074); 海南省自然科学基金项目(312056)

作者简介: 吴繁花(1972-), 女, 海南文昌人, 海南大学农学院实验师, 硕士。

通信作者: 刘国道(1963-), 男, 博士生导师。研究方向: 热带牧草。E-mail: Liuguodao2008@163.com

长势相对良好的10棵苗,疏苗1周后用含有不同质量百分比NaCl营养液进行盐胁迫处理,试验采用随机区组设计,设7个盐质量百分比即0.00%,0.30%,0.60%,0.90%,1.20%,1.50%和1.80%,每个处理设3次重复。处理期间每天用蒸馏水补充蒸发所散失的水分并保持盐质量百分比不变。盐处理第25天测定各项生长指标,盐处理1个月后停止胁迫并测定各项生理生化指标。

1.2.2 测定方法

1.2.2.1 叶盐害程度评定 盐处理第25天观测调查盐害级别,叶片盐害程度按6级标准判定^[7],具体为:0级,无盐害症状;1级,轻度盐害,约1/3的叶尖和叶缘失水萎蔫状;2级,中度盐害,约1/2的叶尖和叶缘失水萎蔫状并有焦枯;3级,重度盐害,约2/3的叶尖和叶缘失水萎蔫状并有焦枯,焦枯面积约达1/3;4级,极度盐害,所有叶片叶尖和叶缘焦枯,面积达1/2以上;5级,植株叶片全部枯死。

1.2.2.2 存活率的测定 在盐胁迫处理第25天时,观测各盆中存活植株的棵数,记作苗存活数,除以处理前各盆中植株数,即为盐胁迫处理后存活率。

$$\text{存活率} = \text{处理后存活数} / \text{处理前存活数} \times 100\%$$

1.2.2.3 相对株高的测定 在盐胁迫处理第25天时,测定各处理中植株的平均株高,用直尺测定每棵苗从砂层到拉直最长叶叶尖的长度,以每盆中3株存活苗高的平均值作为平均株高。将处理前后平均株高的差为处理期的株高,再与对照组相比较,即为相对株高。

$$\text{相对高度} = (\text{处理后高度} - \text{处理前高度}) / \text{对照组株高} \times 100\%$$

1.2.2.4 盐胁迫下生理生化指标的测定方法 盐胁迫处理1个月后停止胁迫,测定各项生理生化指标,测定叶绿素含量采用分光光度法^[10];质膜相对透性采用电导仪法^[11];游离脯氨酸含量采用茚三酮显色法^[12];丙二醛含量采用硫代巴比妥酸法^[12];SOD活力采用NBT光化学还原法^[13];可溶性蛋白含量采用考马斯亮兰G-250染色法^[12]。结果用SAS软件进行方差分析、Duncan检验。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对柱花草幼苗生长指标的影响

2.1.1 盐胁迫对柱花草幼苗叶片的损害 盐胁迫处理第25天时,对各柱花草叶片盐害级别打分及方差分析结果见表1。4种柱花草间($F=8.00, P<0.01$)、盐质量百分比间($F=116.5560, P<0.01$)差异达极显著。随着盐质量百分比的增加盐害程度逐渐加重,当盐质量百分比达到0.6%时,盐害极显著高于对照,热研2号叶片开始出现盐害现象,而其他3种在盐质量百分比达到0.9%时,叶片开始出现盐害现象,当盐质量百分比达到1.8%时,4种柱花草大部分幼苗相继枯死或严重枯萎;热研2号盐害平均级别极显著高于西卡、显著高于热研5号二倍体、四倍体,而热研5号二倍体、四倍体间差异不显著。根据盐处理后叶片受损伤程度排名为:西卡>热研5号四倍体>热研5号二倍体>热研2号。

表1 盐胁迫对柱花草叶片盐害级别的影响

Tab.1 Effect of salt stress on level of salt injury of *Stylosanthes*

名称 Stylo cultivar	NaCl 的质量百分比 Percentage of quality of NaCl							平均值 Mean
	0.00%	0.30%	0.60%	0.90%	1.20%	1.50%	1.80%	
	0.00%	0.30%	0.60%	0.90%	1.20%	1.50%	1.80%	
热研5号二倍体 Diploid of Reyan No.5	0	0	1	2	3	4	5	2.14 ABb
热研5号四倍体 Tetraploid of Reyan No.5	0	0	1	2	3	4	5	2.14 ABb
西卡 Seca	0	0	1	2	2	3	4	1.71 Bc
热研2号 Reyan No.2	0	1	2	3	3	4	5	2.57 Aa
均值 Mean	0.00Ef	0.25Ef	1.25De	2.25Cd	2.75Cc	3.75Bb	4.75Aa	

注:表中同列(或同行)数据后英文小写字母不同表示差异显著($P<0.05$),大写英文字母不同表示差异极显著($P<0.01$),下同

Note: The lowercase letters after the data in the same line (or same row) indicate the significance at 0.05 level; uppercase letters indicate the significance at 0.01 level, similarly hereinafter

2.1.2 盐胁迫对柱花草幼苗存活率及株高的影响 盐胁迫处理第 25 天时,对 4 种柱花草进行存活率记录及株高测量,方差分析结果见表 2,3。4 种柱花草间($F=2.08, P>0.05$) 的存活率没有显著差异,盐质量百分比间($F=215.77, P<0.01$) 差异达极显著,当盐质量百分比为 1.5% 时,个别植株死亡,当盐质量百分比达到 1.8% 时,大部分植株死亡,存活率只有 25.46%,说明参试的 4 种柱花草对高浓度盐的耐受力较弱;4 种柱花草的相对株高在品种间($F=22.60, P<0.01$) 、盐质量百分比间($F=81.32, P<0.01$) 差异达极显著,西卡的相对株高极显著矮于其他 3 种,热研 5 号四倍体与二倍体间没有显著差异。根据幼苗存活率高低进行排名为: 西卡 > 热研 5 号二倍体 > 热研 2 号 > 热研 5 号四倍体; 根据相对株高进行排名为: 西卡 > 热研 2 号 > 热研 5 号二倍体 > 热研 5 号四倍体。

表 2 盐胁迫对柱花草幼苗存活率的影响

Tab. 2 Effect of salt stress on survival rate of Stylosanthes seedlings

%

名称 Stylo cultivar	NaCl 的质量百分比 Percentage of quality of NaCl							平均值 Mean
	0.00%	0.30%	0.60%	0.90%	1.20%	1.50%	1.80%	
热研 5 号二倍体 Diploid of Reyan No. 5	100	100	100	100	100	80	10	88.00a
热研 5 号四倍体 Tetraploid of Reyan No. 5	100	100	100	100	100	80	20	86.67a
西卡 Seca	100	100	100	100	100	90	30	89.52a
热研 2 号 Reyan No. 5	100	100	100	100	100	90	30	87.629a
均值 Mean	100.0Aa	100.0Aa	100.0Aa	100.0Aa	99.17Aa	85.83Bb	25.46Cc	

表 3 盐胁迫对柱花草株高的影响

Tab. 3 Effect of salt stress on plant height of Stylosanthes

%

名称 Stylo cultivar	NaCl 的质量百分比 Percentage of quality of NaCl							平均值 Mean
	0.00%	0.30%	0.60%	0.90%	1.20%	1.50%	1.80%	
热研 5 号二倍体 Diploid of Reyan No. 5	29.53	29.34	26.00	21.30	16.33	12.00	5.34	19.98ABa
热研 5 号四倍体 Tetraploid of Reyan No. 5	31.17	30.24	27.17	26.00	18.33	13.33	6.23	21.78Aa
西卡 Seca	25.40	19.00	16.34	15.00	10.07	6.66	5.17	13.95 Cc
热研 2 号 Reyan No. 2	28.16	26.07	23.23	16.60	14.30	9.33	5.16	17.55Bb
均值 Mean	28.5Aa	26.16ABa	23.18BCb	19.72Cc	14.76Dd	10.33Ee	5.48Ff	

2.2 盐胁迫对柱花草幼苗生理生化指标的影响

2.2.1 盐胁迫对柱花草幼苗叶片细胞膜透性的影响 盐胁迫处理第 30 天时,对 4 种柱花草进行叶片电导率测定及方差分析,结果见表 4。4 种柱花草间($F=61.00, P<0.01$) 、盐质量百分比间($F=88.63, P<0.01$) 差异达极显著,当盐质量百分比达到 0.9% 以上时电导率迅速增加,此时细胞膜受到了较大的破坏。热研 2 号的平均电导率最大,而西卡最小,说明热研 2 号的细胞膜较容易受到盐胁迫的损伤,西卡则较耐受盐胁迫,不易被破坏。根据相对电导率的大小排名为: 西卡 > 热研 5 号四倍体 > 热研 5 号二倍体 > 热研 2 号。

表 4 盐胁迫对柱花草细胞膜透性的影响

Tab.4 Effect of salt stress on membrane permeability of Stylosanthes %

名称 Stylo cultivar	NaCl 的质量百分比 Percentage of quality of NaCl						平均值 Mean
	0.00%	0.30%	0.60%	0.90%	1.20%	1.50%	
热研 5 号二倍体 Diploid of Reyan No. 5	32.09	35.35	38.29	46.12	53.28	61.88	44.50B
热研 5 号四倍体 Tetraploid of Reyan No. 5	28.87	30.64	34.50	40.47	46.99	53.01	39.08C
西卡 Seca	19.32	21.25	29.75	35.70	40.59	46.66	32.21D
热研 2 号 Reyan No. 2	32.69	39.00	44.57	53.56	62.65	71.36	50.64A
均值 Mean	28.24Ee	31.56Ee	36.78Dd	43.96Cc	50.88Bb	58.23Aa	

2.2.2 盐胁迫对柱花草游离脯氨酸含量的影响 盐胁迫处理第 30 天时,对 4 种柱花草进行游离脯氨酸含量测定及方差分析结果见表 5。4 种柱花草间($F = 58.92, P < 0.01$)、盐质量百分比间($F = 297.61, P < 0.01$) 差异达极显著,热研 5 号四倍体与二倍体间差异显著,但没达到极显著,当盐质量百分比达到 0.9% 时脯氨酸大量积累,说明此时植株受到严重逆境胁迫,但盐质量百分比在 1.2% 与 1.5% 间差异不显著。根据游离脯氨酸含量的高低排名为: 西卡 > 热研 5 号四倍体 > 热研 5 号二倍体 > 热研 2 号。

表 5 盐胁迫对柱花草脯氨酸含量的影响

Tab.5 Effect of salt stress on proline content of Stylosanthes $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$

名称 Stylo cultivar	NaCl 的质量百分比 Percentage of quality of NaCl						平均值 Mean
	0.00%	0.30%	0.60%	0.90%	1.20%	1.50%	
热研 2 号 Reyan No. 2	58.84	62.65	68.4	87.44	99.95	100.13	79.57Cd
热研 5 号四倍体 Tetraploid of Reyan No. 5	68.62	71.03	78.03	92.21	112.12	117.01	89.84Bb
热研 5 号二倍体 Diploid of Reyan No. 5	65.99	68.52	75.96	89.08	108.67	111.68	86.65Bc
西卡 Seca	75.92	76.98	82.3	106.53	119.49	122.01	97.21Aa
均值 Mean	67.36Dd	69.8Dd	76.17Cc	93.81Bb	110.06Aa	112.71Aa	

2.2.3 盐胁迫对柱花草丙二醛含量的影响 盐胁迫处理第 30 天时,对 4 种柱花草进行丙二醛含量测定及方差分析,结果见表 6。4 种柱花草间($F = 1.40, P > 0.05$) 差异不显著,盐质量百分比间($F = 52.11, P < 0.01$) 差异达极显著,随着盐质量百分比的不断提高丙二醛含量也不断提高,盐质量百分比在 1.2% 与 1.5% 间差异不显著,当盐质量百分比为 1.5% 时,丙二醛积累量平均为 $0.037 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$; 西卡柱花草受盐胁迫后的变化率最小,热研 5 号二倍体最大。根据丙二醛含量的变化率排名为: 西卡 > 热研 5 号四倍体 > 热研 2 号 > 热研 5 号二倍体。

表 6 盐胁迫对柱花草丙二醛含量的影响

Tab.6 Effect of salt stress on malondialdehyde content of Stylosanthes $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

名称 Stylo cultivar	NaCl 的质量百分比 Percentage of quality of NaCl						平均值 Mean
	0.00%	0.30%	0.60%	0.90%	1.20%	1.50%	
热研 2 号 Reyan No. 2	0.029	0.032	0.033	0.034	0.036	0.037	0.0335a
热研 5 号四倍体 Tetraploid of Reyan No. 5	0.03	0.033	0.034	0.035	0.037	0.037	0.0343a
热研 5 号二倍体 Diploid of Reyan No. 5	0.027	0.033	0.034	0.035	0.036	0.037	0.0337a
西卡 Seca	0.03	0.033	0.034	0.034	0.035	0.036	0.0337a
均值 Mean	0.0290Ed	0.0328Dc	0.0338CDbc	0.0345BCb	0.0360ABa	0.0368Aa	

2.2.4 盐胁迫对柱花草叶绿素含量的影响 盐胁迫处理第 30 天时,对 4 种柱花草进行叶绿素含量测定及方差分析,结果见表 7。4 种柱花草间($F=7.18, P<0.01$)、盐质量百分比间($F=5.19, P<0.01$)差异达到极显著。热研 5 号四倍体与热研 5 号二倍体达极显著差异、与西卡差异显著、与热研 2 号差异不显著;4 种柱花草的叶绿素总量在受到质量百分比低的盐胁迫时开始下降,以后随着盐质量百分比的提高,叶绿素总量呈先上升后下降的趋势,而热研 5 号二倍体在盐质量百分比为 0.90% 时,开始持续上升,在盐质量百分比为 1.5% 时,平均含量为 $1.539 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。根据叶绿素总含量排名依次为:热研 5 号二倍体 > 西卡 > 热研 5 号四倍体 > 热研 2 号。

表 7 盐胁迫对柱花草叶绿素含量的影响

Tab. 7 Effect of salt stress on chlorophyll content of Stylosanthes

 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

名称 Stylo cultivar	NaCl 的质量百分比 Concentration of NaCl						均值 Mean
	0.00%	0.03%	0.06%	0.09%	1.20%	1.50%	
热研 2 号 Reyan No. 2	1.465	1.262	1.398	1.169	1.299	1.122	1.289Cb
热研 5 号四倍体 Tetraploid of Reyan No. 5	1.518	1.323	1.381	1.319	1.155	1.196	1.315BCb
热研 5 号二倍体 Diploid of Reyan No. 5	1.583	1.431	1.472	1.342	1.427	1.539	1.466Aa
西卡 Seca	1.591	1.497	1.469	1.531	1.332	1.267	1.448ABa
均值 Mean	1.539Aa	1.378ABbc	1.430ABab	1.340Bbc	1.303 Bbc	1.281Bc	

2.2.5 盐胁迫对柱花草可溶性蛋白含量的影响 盐胁迫处理第 30 天时,对 4 种柱花草进行可溶性蛋白含量测定及方差分析,结果见表 8。4 种柱花草间($F=8.34, P<0.01$)差异达极显著,其中西卡极显著高于其他 3 种,而其他 3 种间差异不显著,盐质量百分比间($F=0.48, P>0.05$)差异不显著;4 种柱花草在盐胁迫处理下可溶性蛋白平均含量变化不大;西卡的可溶性蛋白含量相对最高,热研 2 号次之,热研 5 号二倍体含量最小,该次盐胁迫对 4 种柱花草中可溶性蛋白的含量影响较小,根据可溶性蛋白质含量高低排名为:西卡 > 热研 2 号 > 热研 5 号四倍体 > 热研 5 号二倍体。

表 8 盐胁迫对柱花草中可溶性蛋白的影响

Tab. 8 Effect of salt stress on soluble protein content of Stylosanthes

 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

名称 Stylo cultivar	NaCl 的质量百分比 Concentration of NaCl						均值 Mean
	0.00%	0.03%	0.06%	0.09%	1.20%	1.50%	
热研 2 号 Reyan No. 2	2.442	2.636	2.829	2.694	2.472	2.845	2.653Bb
热研 5 号四倍体 Tetraploid of Reyan No. 5	2.743	2.162	2.639	2.444	2.776	2.121	2.480 Bb
热研 5 号二倍体 Diploid of Reyan No. 5	2.183	2.551	2.113	2.708	2.520	2.828	2.467 Bb
西卡 Seca	2.975	3.088	3.473	3.154	2.828	3.504	3.170Aa
均值 Mean	2.586a	2.609a	2.763a	2.750a	2.649a	2.799a	

2.2.6 盐胁迫对柱花草 SOD 活性的影响 盐胁迫处理第 30 天时,对 4 种柱花草进行 SOD 活性测定及方差分析,结果见表 9。4 种柱花草间($F=26.13, P<0.01$)、盐质量百分比间($F=7.38, P<0.01$)差异极显著。西卡与其他 3 种柱花草差异达极显著,热研 5 号四倍体与二倍体及热研 2 号差异显著,西卡在 0.60% 时 SOD 活性最大,为 $142.282 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,在盐质量百分比为 1.50% 时降到 $87.291 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,热研 5 号四倍体在盐质量百分比为 1.20% 时 SOD 活性最大,为 $94.483 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,在 1.50% 时迅速降到 $51.047 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 。根据 SOD 活性高低排名为:西卡 > 热研 5 号四倍体 > 热研 5 号二倍体 > 热研 2 号。

表 9 盐胁迫对柱花草中 SOD 含量的影响
Tab.9 Effect of salt stress on SOD content of Stylosanthes U · g⁻¹

名称 Stylo cultivar	NaCl 的质量百分比 Concentration of NaCl						均值 Mean
	0.00%	0.30%	0.60%	0.90%	1.20%	1.50%	
热研 2 号 Reyan No.2	69.382	77.891	81.771	77.342	57.719	54.620	59.788Bc
热研 5 号四倍体 Tetraploid of Reyan No.5	89.007	76.170	92.123	94.061	94.483	51.047	82.815Bb
热研 5 号二倍体 Diploid of Reyan No.5	65.586	82.320	70.061	88.928	64.790	54.465	71.025Bbc
西卡 Seca	104.269	118.786	142.282	133.897	99.258	87.291	114.197Aa
均值 Mean	81.061ABbc	88.792Aabc	96.559Aab	98.557Aa	79.063ABc	61.856Bd	

2.3 柱花草幼苗耐盐性综合评价 植物耐盐性是比较复杂的过程,其能力大小是多种生理代谢的综合表现,单一指标不能客观地反映植物耐盐的真实性。4 种柱花草各生长、生理生化指标及综合表现分析结果表明,在所选 4 种柱花草中,西卡的耐盐性最强,热研 5 号四倍体次之,热研 2 号的耐盐性较差,4 种柱花草在盐质量百分比小于 0.90% 时均能良好生长,当盐质量百分比达到 1.80% 时难以生存,热研 5 号四倍体和二倍体之间的耐盐性没有明显差异。

3 讨 论

3.1 盐胁迫对柱花草幼苗生长指标的影响 植物受盐胁迫后在形态上首先表现为成熟叶片受害,叶尖、叶缘失水萎蔫、焦枯,叶片变黄,严重时枯死^[14]。研究表明,盐胁迫缩短了植株的衰老死亡过程,胁迫浓度越大衰老死亡速度越快^[15]。本实验中各柱花草在低质量百分比的盐胁迫下生长良好,当盐质量百分比升高到 0.90% 时,热研 5 号二倍体和热研 2 号部分幼苗叶片开始萎蔫,株高增长受到一定影响;以后随着盐质量百分比的增加,株高增长受到的影响越大,当盐质量百分比达到 1.50% 时,个别幼苗死亡,在盐质量百分比为 1.80% 时,幼苗大量死亡,说明低质量百分比盐胁迫对柱花草的生长影响不大,质量百分比高的盐胁迫能使柱花草致死。

3.2 盐胁迫对柱花草幼苗生理生化指标的影响 植物细胞质由质膜包被着,各种不良环境往往首先作用于这层生物膜,使质膜受到不同程度的损伤,往往表现为膜透性增大,细胞内部分电介质外渗^[16]。通过测定组织外渗液的电导率表示质膜透性的变化,外渗液电导率的大小可反映质膜受损伤的程度^[17]。本实验中 4 种柱花草叶片的细胞膜透性与盐胁迫达极显著,在盐质量百分比达到 0.9% 以上时电导率迅速增加,耐盐性较强的相对增加较小,耐盐性较弱的则相反。植物在逆境条件下积累脯氨酸也是一种较普遍的现象,目前,把脯氨酸作为细胞的有效渗透调节物质,保护酶和膜的结构,参与叶绿素的合成,脯氨酸含量的提高是细胞结构和功能受损伤的反应^[18-20]。本实验中柱花草在盐胁迫下脯氨酸含量增加,特别是在盐质量百分比在 0.9% 时增加量较大,脯氨酸量越大其耐盐性越强。丙二醛是逆境下植物体内产生的一种膜脂过氧化产物,在一定程度上可以表示细胞膜脂过氧化的程度和植物对逆境条件反应的强弱^[21]。孙伟泽等^[22]、许鹏等^[23]的研究表明,盐胁迫下牧草中的丙二醛含量随盐质量百分比的升高呈逐渐上升趋势,耐盐性较强的牧草丙二醛的增长率明显低于耐盐性较差的牧草,本实验中西卡的丙二醛含量的变化较小,耐盐性较强。

叶绿素是反映光合能力的重要标志,盐胁迫能促进叶绿素酶的活性,导致叶绿素含量降低,从而抑制植物的生长,因此,叶绿素含量可以用来衡量植物耐盐性的强弱^[24]。豆科牧草在盐胁迫下叶绿素含量变化敏感性较高,可以作为准确可靠的耐盐性指标^[25]。本实验结果分析发现,叶绿素含量的高低与柱花草的耐盐性没有一致性的关系。高辉远等^[26]的研究也得出这样的结论,可能是 NaCl 刺激了叶绿素的合成,也可能是抑制了叶片的生长速率,而叶绿素的合成速率并没有受到较大的影响。大多数作物在遭受胁迫

时体内积累可溶性溶质如可溶性蛋白等,可保护植物细胞在胁迫下的渗透失衡,稳定亚细胞组织,清除抗氧化系统^[7],增加蛋白质含量,提高植物的保水能力^[28]。毛桂莲等^[29]发现 NaCl 胁迫下枸杞愈伤组织可溶性蛋白含量增加且诱导产生了新蛋白,从而使植物细胞对盐胁迫的适应能力增强。在本实验中 4 种柱花草的可溶性蛋白含量随着盐质量百分比提高有所增加,但盐胁迫处理间的影响差异不显著。SOD 是植物体内保护性金属酶类,SOD 活性高,有利于保护脂膜不受自由基的袭击,避免膜上不饱和脂肪酸遭受过氧化的危害^[30],本实验中西卡和热研 2 号的 SOD 活性在盐质量百分比为 0.6% 时增加明显,但随后有明显下降,说明这两种柱花草在此浓度的胁迫下,SOD 活性达到最高。

参考文献:

- [1] CHAKRABORTY S, LIU C J, CAMERON D F. Application of molecular to bread and select anthracnose resistant *Stylosanthes* and to characterize endemic and exotic populations of *Colletotrichum gloeosporioides* [J] // Proceedings of IVth Asia Specific Congress on Agricultural Biotechnology, Darwin, Australia, 1998: 56 – 59.
- [2] EDYE L A, CAMERON D F. Prospects for *Stylosanthes* improvement and utilization [M] // STACE H M, EDYEL A. The Biology and Agronomy of *Stylosanthes*. Sydney, Australia: Academic press, 1984: 571 – 587.
- [3] 武保国. 柱花草 [J]. 牧草园地, 2003(8): 24.
- [4] 吴繁花. 热研 5 号柱花草多倍体诱导的研究 [D]. 海口: 海南大学, 2009.
- [5] 陈三有. 柱花草生产利用技术现状及展望 [J]. 中国草地, 2000(4): 64 – 67.
- [6] CHAKRABORTY S, GHOSH R, GHOSH M, et al. Weather-based prediction of anthracnose severity using artificial neural network models [J]. Plant Pathology. 2004, 53: 286 – 375.
- [7] 唐燕琼. 柱花草种质资源评价及遗传多样性分析 [D]. 海口: 海南大学, 2008.
- [8] 刘春华, 苏加楷, 黄文惠. 禾本科牧草 5 个耐盐生理指标的研究 [J]. 草业科学, 1993(1): 45 – 54.
- [9] 朱兴运, 王锁民, 阎顺国, 等. 碱茅属植物抗盐性与抗盐机制的研究进展 [J]. 草业科学, 1994, 11(3): 9 – 15.
- [10] 张宪政. 作物生理研究法 [M]. 北京: 农业出版社, 1992.
- [11] 李合生, 孙群, 赵世杰, 等. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2004.
- [12] 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.
- [13] 邹琦. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [14] 邹树乾. 热带牧草种子萌发期及幼苗期耐盐性研究 [D]. 儋州: 华南热带农业大学, 2005.
- [15] 马琳. NaCl 胁迫对牧草种子萌发与幼苗生理生化的影响及耐盐性评价 [D]. 山东: 山东农业大学, 2010.
- [16] 汤章城. 现代植物生理学实验指南 [M]. 北京: 科学出版社. 1999.
- [17] 郎志红. 盐碱胁迫对植物种子萌发及幼苗生长的影响 [D]. 甘肃: 兰州交通大学, 2008.
- [18] STEWAR C R, LEE J A. The role of praline accumulation in halophytes [J]. Plant, 1974: 120 – 279.
- [19] 汤章城. 逆境条件下植物脯氨酸积累及其可能的意义 [J]. 植物生理学通讯, 1984(1): 68 – 71.
- [20] HSNSIB A D, NELSEN C E. Evaluation of free praline accumulation as an index of drought resistance using two contrasting barely cultivars [J]. Crop Sci., 1977, 17: 720 – 734.
- [21] 陈洁, 林栖凤. 植物耐盐生理及耐盐机理研究进展 [J]. 海南大学学报: 自然科学版, 2003(2): 177 – 182.
- [22] 孙伟泽, 韩博, 胡晓宁, 等. 不同浓度盐胁迫下苜蓿丙二醛含量变化 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(5): 1905 – 1906, 1911.
- [23] 许鹏. 新疆荒漠区草地与水盐植物系统及优化生态模式 [M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [24] 王怡丹, 全炳武, 朴京珠, 等. 水分胁迫对 4 种牧草苗期的抗旱性比较 [J]. 延边大学农学学报, 2007, 29(2): 101 – 106.
- [25] 翁森红, 徐柱, 师文贵, 等. 牧草叶片的叶绿素含量与牧草耐盐性的关系 [J]. 四川草原, 1999(1): 11 – 14.
- [26] 吐尔逊娜依, 高辉远, 安沙舟, 等. 8 种牧草耐盐性综合评价 [J]. 中国草地, 1995(1): 30 – 32.
- [27] HEUER B. Influence of exogenous application of proline and glycine betaine on growth of salt-stressed tomato plants [J]. Plant Science. 2003, 165(4): 693 – 699.
- [28] 肖强, 郑海雷, 陈瑶, 等. 盐度对互花米草生长及脯氨酸、可溶性糖和蛋白质含量的影响 [J]. 生态学杂志, 2005, 24(4): 373 – 376.
- [29] 毛桂莲, 许兴. 枸杞耐盐突变体的筛选及生理生化分析 [J]. 西北植物学报, 2005, 25(2): 275 – 280.
- [30] 张远冰, 刘爱荣, 方蓉. 外源一氧化氮对镉胁迫下黑麦草生长和抗氧化酶活性的影响 [J]. 草业学报, 2008, 17(4): 57 – 64.

- 〔6〕 戴邵军,刘焕宏,陈立群. 鹿角蕨配子体发育的研究 〔J〕. 哈尔滨师范大学学报,1998,14(1):71-74.
- 〔7〕 刘保东,王志宏. 朝鲜蛾眉蕨配子体形态发育的研究 〔J〕. 植物学通报,1995,12(1):49-51.
- 〔8〕 张开梅,石雷,张宪春. 三角鳞毛蕨配子体发育的研究 〔J〕. 武汉植物学研究,2005,23(3):276-279.
- 〔9〕 郭治友,张宪春. 龙头节肢蕨发育的研究 〔J〕. 植物研究,2009,29(5):513-516.

New Observation of Gametophyte Development of *Bolbitis angustipinna*

YUAN Huihui¹, LIU Baodong^{1,2}

(1. College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin 150025, China;

2. Key Laboratory of Plant Biology, College of Heilongjiang Province, Harbin 150025, China)

Abstract: The structural features of gametophytes of *Bolbitis angustipinna* (Hayata) H. Ito at each stage of development were observed under the condition of artificial culture by using Olympus-BX53 optical microscope. The morphological characteristics of the border cell and the rhizoid differentiation were observed. It was found that the development of *B. angustipinna* gametophyte included spore germination, protonema development, formation of the prothallial plate, and prothallus formation. And the gametophyte of trichome, border cell and rhizoid had stable systematic characteristics: the trichome was unicellular and clavate; the border cell had two special forms, alveoli and protuberance; rhizoids were not only bended, bifurcated and top swollen but also constricted irregularly and serrated.

Key words: *Bolbitis angustipinna*; gametophyte; development

(上接第42页)

Comparative Analysis of Salt Tolerance of Four Cultivars of *Stylosanthes*

WU Fanhua^{1,2}, YU Xudong², LIU Fenling², BAI Chuangjun¹, LIU Guodao¹

(1. Tropical Crops Genetic Resources Institute, CATAS, Danzhou 571737, China;

2. College of Agronomy, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: *Stylosanthes guianensis* is a perennial herb plant, and belongs to the genus *Stylosanthes*, the family Leguminous, and it is an excellent tropical pasture. Four *Stylosanthes* cultivars, tetraploids of Reyan No. 5, Reyan No. 2, Reyan No. 5, and Seca, were treated with salt in potting to observe their physiological and biochemical responses based on which a comprehensive assessment was made for their salt tolerance under salt stress. The results showed that the physiological and biochemical indexes of these cultivars were influenced by the salt concentration of 0.90%, and that the growth indexes were influenced by the salt concentration of 1.20%. Most seedlings were seriously influenced and died when treated with salt at the concentration of 1.8%. Comprehensive analysis indicated that Seca showed the strongest salt tolerance, followed by the tetraploids of Reyan No. 5, and that Reyan No. 2 was the weakest in salt tolerance. All plants of the *Stylosanthes* cultivars grew well when treated with salt at the concentration of lower than 0.90%, but hardly survived when treated with salt at the concentration of 1.80%. Meanwhile, there were no obvious differences between tetraploid and diploid of Reyan No. 5.

Key words: *Stylosanthes*; salt tolerance; comprehensive assessment