

无菌培养条件下8个紫花苜蓿品种的 苗期耐盐性研究

彭 湖^a, 代 锦^b, 呼天明^a

(西北农林科技大学 a 动物科技学院, b 植物保护学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】【目的】探讨8个紫花苜蓿品种的耐盐性,为盐碱地改良与利用选择适宜的苜蓿品种。【方法】以8个紫花苜蓿品种种子为材料,在组织培养条件下,观测8个品种在不同浓度NaCl(MS培养基中NaCl浓度分别为0, 50, 85, 120, 170 mmol/L)胁迫下的发芽率、单株鲜质量、根长、苗高以及游离脯氨酸含量的变化,并对其耐盐性进行综合评价。【结果】低浓度(50 mmol/L)NaCl处理对紫花苜蓿的萌发和生长具有促进作用;随着NaCl浓度(85~170 mmol/L)的升高,紫花苜蓿的发芽率和生长受到明显抑制,表现为相对发芽率、相对根长、相对苗高以及相对单株鲜质量明显下降,而游离脯氨酸含量明显升高。8个紫花苜蓿品种耐盐性的综合排序及其得分为“金皇后”(3.095) > “巨人201”(2.467) > “三得利”(2.379) > “阿尔冈金”(2.369) > “保定”(2.077) > “中苜1号”(1.474) > “敖汉”(0.885) > “WL-232”(0.310)。【结论】“金皇后”是耐盐性最高的紫花苜蓿品种,适宜在土壤盐碱含量较高的地区种植;而耐盐性最差的是“敖汉”和“WL-232”,盐碱地应尽量避免选种这2个品种。

【关键词】 紫花苜蓿;组织培养;耐盐性;综合评价

【中图分类号】 S551⁺.7

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2010)04-0176-07

Study on salt tolerance of 8 alfalfa varieties under sterile condition in seedling stage

PENG Hu^a, DAI Jin^b, HU Tian-ming^a

(a College of Animal Science, b College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】Salt tolerance of 8 alfalfa varieties was investigated in this study. 【Method】The germination rate, the single fresh weight, the root length and the seedling height as well as the free proline content of 8 alfalfa varieties under different NaCl concentrations(0, 50, 85, 120, 170 mmol/L in agar medium) were studied *in vitro*. Salt tolerance features were comprehensively assessed. 【Result】The results indicated that lower concentration of NaCl(50 mmol/L) promoted germination and growth of alfalfa; However germination rate and growth of alfalfa were restrained prominently with the increase of NaCl contents (85, 120, 170 mmol/L). The relative germination, the relative single fresh weight, the relative root length and the relative height decreased significantly with the increase of NaCl concentration, while the free proline content increased significantly. According to the results of integrated evaluation, the sort and score of the salt tolerance of seeds of 8 varieties were “God empress” (3.095) > “Ameristand 201” (2.467) > “Sand-ity” (2.379) > “Algonquin” (2.369) > “Baoding” (2.077) > “Zhongmu No. 1” (1.474) > “Aohan” (0.885) > “WL-232” (0.310). 【Conclusion】“God empress” is the most salt-tolerant alfalfa variety, and is suitable for

* [收稿日期] 2009-10-16

[基金项目] 农业部行业专项(nyhy2x07-22);国家科技支撑计划项目(2008BADB3B05);科技部国际合作项目(2006DFA33630)

[作者简介] 彭 湖(1983—),女,湖南永顺人,在读硕士,主要从事紫花苜蓿饲料资源开发与利用研究。

E-mail: penghu5228197@163.com

[通信作者] 呼天明(1958—),男,内蒙古伊金霍洛旗人,教授,博士生导师,主要从事牧草繁育及草畜一体化研究。

E-mail: hutianming@126.com

planting in the high saline-alkali soil; While “Aohan” and “WL-232” are the least salt-tolerant alfalfa varieties, and we should avoid planting them in the high saline-alkali soil.

Key words: alfalfa; *in vitro* culture; salt tolerance; integrated evaluation

盐害是 21 世纪世界农业发展面临的重要问题^[1]。据调查,全球 6% 的陆地面积遭受着土壤盐渍化的侵蚀,20% 的灌溉农业受到不同程度的盐害威胁^[2]。我国是盐碱地面积较大的国家之一,有各类盐碱地约 $3.46 \times 10^7 \text{ hm}^2$,其中盐渍化耕地 $6 \times 10^6 \text{ hm}^2$ ^[3]。种植耐盐、抗盐植物是进行盐碱地改良的有效措施。植物对盐胁迫的反应是一种复杂的生理过程^[4],用常规方法研究植物抗盐性受时间及材料生理状态等多因素的影响。组织培养技术的发展不仅为常规植物改良提供了新的手段,而且也研究植物抗逆性开辟了新途径。以植物种子为外植体研究植物的耐盐性,具有取材时间不受限制、材料充足且生理状态一致、操作简便等优点^[5]。紫花苜蓿系豆科植物中较耐盐的饲料作物,能在轻度盐碱地种植^[3]。培育耐盐苜蓿品种,提高其耐盐性,不但能提高盐碱地的利用率、改良盐碱地,而且可以增加优质蛋白质饲料,为这类地区发展畜牧业奠定了物质基础。

近年来,国内外对紫花苜蓿的耐盐性进行了大量研究,研究内容主要集中在生理生化、耐盐性基因克隆与分子标记及耐盐性育种等方面^[6-7],如 Al-Khatib-M 等^[8]、Ben Chanbane^[9]、耿华珠^[10]对不同苜蓿品种在不同盐浓度下的发芽率进行了研究,结果表明,苜蓿品种间及品种内均存在显著差异,认为苜蓿具有通过选择增加其耐盐性的遗传潜力,可以在不同地区具有广泛遗传特异性的品种间筛选出比较耐盐的品种。也有一些研究者对不同苜蓿品种的耐盐极限及耐盐性的评价方法进行了研究^[11-13],其中大多采用发芽率方法,仅有少数研究者采用株高、干质量等多个指标对苜蓿的耐盐性进行评价^[10,14],很少有研究者将生育指标与生理活性指标结合起来进行综合评价。为此,本研究利用组织培养技术,以 8 个紫花苜蓿品种种子为材料,测定不同盐浓度下的发芽率、单株鲜质量、根长、苗高以及游离脯氨酸含量,探讨盐胁迫下各品种紫花苜蓿的耐盐能力和耐盐反应机制,以期利用苜蓿改良盐碱地、提高盐碱地利用率提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

试验共收集 8 个耐盐特性不同的紫花苜蓿品

种,这 8 个品种均属于高产优质紫花苜蓿,且能在一定区域广泛种植,其中 5 个为国外引进品种,另有 1 个国内育成品种和 2 个地方品种,种子全部购自中国农业科学院北京畜牧兽医研究所。材料来源详见表 1。

表 1 8 个紫花苜蓿品种及其来源
Table 1 8 alfalfa varieties and origins

序号 No.	紫花苜蓿品种 Variety	来源 Origin
1	三得利 Sandity	荷兰 Holland
2	巨人 201 Ameristand 201	美国 America
3	金皇后 God empress	美国 America
4	阿尔冈金 Algonquin	美国 America
5	保定 Baoding	中国北京 Beijing, China
6	WL-232	美国 America
7	敖汉 Aohan	中国内蒙古 Inner Mongolia, China
8	中苜 1 号 Zhongmu No. 1	中国北京 Beijing, China

1.2 试验方法

试验于 2009-03-05—08-30 在西北农林科技大学草业科学实验室进行。

1.2.1 种子处理 挑选大小一致、饱满且有生活力的不同品种紫花苜蓿种子,在体积分数 75% 酒精中浸泡 30~60 s,经体积分数 40% NaClO 消毒 30 min,用无菌水清洗 4~5 次,然后接种于无菌 MS+不同浓度 NaCl 的培养基上,NaCl 浓度分别为 0(对照),50,85,120,170 mmol/L。培养基在 120 ℃ 下高压灭菌 20 min(灭菌前 pH 调至 5.8),待培养基冷却凝固后接种,每处理接种 6 瓶,每个三角瓶接种 20 粒种子。

1.2.2 培养条件 培养温度为 $(25 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$,光照为 4 000 lx,光照时间为 14 h/d。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 发芽率的测定 每天观察各品种紫花苜蓿种子的生长情况,12 d 后统计发芽率。

1.3.2 形态指标的测定 将不同处理各品种紫花苜蓿的种子培养 30 d 后,选长势一致的 5 株幼苗测定单株鲜质量、根长和苗高,取平均值。

1.3.3 游离脯氨酸含量的测定 将不同处理各品种紫花苜蓿的种子培养 30 d 后,称取 0.1~1.0 g 长势一致的 5 株幼苗功能叶片,用碘基水杨酸提取法测定游离脯氨酸含量,重复 3 次,取平均值^[15]。

1.3.4 各指标相对值的计算 各指标相对值 = 各

指标处理值/各指标对照值。

1.3.5 8 个紫花苜蓿品种耐盐性的综合评价 以往的研究普遍采用人为打分评价植物的耐盐性^[3]。为了避免人为主观影响,本试验用各项指标的变异系数来确定权重系数。综合评价的方法是:首先,采用五级评分法^[16]对各组数据进行定量表示,消除各性状因数值大小和变化幅度不同而产生的差异;然后,参考杨宇^[17]的变异系数法对各项指标与耐盐性的密切程度进行权重分配;最后,对各项指标的权重系数矩阵和各项指标所达到水平的单项鉴评矩阵进行复合运算,即可获得各品种的综合评价得分以及 8 个紫花苜蓿品种的耐盐性排序。

1.4 数据处理方法

用 SAS 统计分析软件、EXCEL 对试验数据进行分析 and 拟合。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对紫花苜蓿发芽率的影响

由表 2 可以看出,8 个紫花苜蓿品种的种子培养 12 d 后,在 NaCl 浓度为 50 mmol/L 的培养基上,部分紫花苜蓿品种种子的发芽率高于对照,说明

低盐浓度在短时间内对紫花苜蓿种子的萌发起促进作用。但随着培养基中 NaCl 浓度的增加,各品种紫花苜蓿种子的发芽率均呈下降趋势,当 NaCl 浓度低于 120 mmol/L 时,各品种紫花苜蓿种子的发芽率下降较慢;高于该浓度时,各品种紫花苜蓿种子的发芽率下降较快。说明随着盐胁迫程度的增强,种子的累积发芽率降低,发芽整齐度下降。此外,根据观察记录,培养基中 NaCl 浓度为 0 mmol/L 时,紫花苜蓿种子第 3 天才开始发芽;NaCl 浓度为 50 mmol/L 时,第 2 天开始发芽;NaCl 浓度为 85 和 120 mmol/L 时,第 3 天开始发芽;NaCl 浓度为 170 mmol/L 时,第 4 天开始发芽。说明随着盐浓度的增加,紫花苜蓿种子的发芽率逐渐降低,发芽时间推后。

由表 2 还可以看出,培养基中 NaCl 浓度为 50、85、120 和 170 mmol/L 时,8 个紫花苜蓿品种的平均发芽率分别为 71.46%,55.00%,37.50%,25.83%,变异系数分别为 8.92%,14.49%,15.87%,16.30%,说明 85、120 和 170 mmol/L NaCl 对紫花苜蓿发芽有明显的抑制作用,且随着 NaCl 浓度的增加,各品种的耐盐性差异增大。

表 2 8 个紫花苜蓿品种在不同浓度 NaCl 培养基中的发芽率

Table 2 Germination rate of 8 alfalfa varieties in different NaCl concentrations in agar medium %

品 种 Variety	NaCl 浓度/(mmol · L ⁻¹) NaCl concentration				
	0	50	85	120	170
三得利 Sandity	76.67 B	68.35 B	41.67 CD	31.67 C	20.00 C
巨人 201 Ameristand 201	53.33 E	66.65 B	55.00 BC	43.33 B	33.33 AB
金皇后 God empress	66.67 CD	80.00 A	71.67 A	45.00 B	30.00 B
阿尔冈金 Algonquin	75.00 BC	80.00 A	68.33 AB	56.67 A	38.33 A
保定 Baoding	86.67 A	88.35 A	81.67 A	46.67 AB	31.67 AB
WL-232	73.33 BCD	66.65 B	46.67 CD	31.67 C	20.00 C
敖汉 Aohan	65.00 D	58.35 B	33.33 D	18.33 D	16.67 C
中苜 1 号 Zhongmu No. 1	66.67 CD	63.35 B	41.67 CD	26.67 CD	16.67 C
平均 Average	70.42	71.46	55.00	37.50	25.83
变异系数 CV	6.64	8.92	14.49	15.87	16.30

注:同列数据后标不同大写字母者表示差异极显著($P<0.01$)。表 4 同。

Note: Difference is highly significant when the letters are different in the same row ($P<0.01$). Table 4 is the same.

2.2 紫花苜蓿形态指标与培养基中 NaCl 浓度的相关性

由表 3 可以看出,相对发芽率、相对单株鲜质量、相对根长、相对苗高与 NaCl 浓度存在显著负相关关系。表明盐胁迫后,紫花苜蓿的相对发芽率、相对单株鲜质量、相对根长、相对苗高均呈下降趋势。回归分析后得直线回归方程,令相对发芽率、相对单株鲜质量、相对根长、相对苗高分别等于 75%,50%

和 25%,可得盐胁迫浓度的适宜值、临界值和极限值^[18],结果上述指标在不同紫花苜蓿品种间均有较大差异,是反映品种间耐盐性差异的较优指标。

2.3 盐胁迫对紫花苜蓿游离脯氨酸含量的影响

脯氨酸是一种重要的有机渗透调节物质,具有平衡液泡中高浓度盐分、避免细胞质脱水、稳定细胞蛋白质结构、防止酶变性失活等作用^[19]。盐胁迫对 8 个紫花苜蓿品种游离脯氨酸含量的影响见表 4。

表 3 8 个紫花苜蓿的形态指标与培养基中 NaCl 浓度的相关性分析

Table 3 Relationship between morphological indexes and NaCl concentration in agar medium of 8 alfalfa varieties

品种 Variety	指标 Morphologi- cal index	相关系数(<i>R</i>) Coefficient correlation	显著性 Significance	回归方程 Regression	NaCl 浓度/(mmol·L ⁻¹)		
					适宜值 Adequate value	临界值 Critical value	极限值 Limiting value
三得利 Sandity	<i>A</i>	-0.950	*	$y = -85.534x + 106.180$	62.457	233.573	404.689
	<i>B</i>	-0.988	*	$y = -124.470x + 163.840$	122.177	156.571	190.794
	<i>C</i>	-0.996	* *	$y = -60.580x + 92.492$	49.452	119.952	190.623
	<i>D</i>	-0.969	*	$y = -70.820x + 97.589$	54.586	114.990	175.394
巨人 201 Amer- istand 201	<i>A</i>	-0.990	*	$y = -89.661x + 149.010$	141.170	188.912	236.653
	<i>B</i>	-0.958	*	$y = -89.682x + 99.562$	46.886	94.627	142.197
	<i>C</i>	-0.958	*	$y = -63.099x + 96.208$	57.495	125.257	193.190
	<i>D</i>	-0.956	*	$y = -91.461x + 138.200$	118.241	164.956	211.841
金皇后 God empress	<i>A</i>	-0.978	*	$y = -114.020x + 156.260$	122.005	159.480	196.954
	<i>B</i>	-0.972	*	$y = -95.941x + 117.080$	75.120	119.610	164.271
	<i>C</i>	-0.967	*	$y = -48.514x + 115.410$	142.539	230.664	318.960
	<i>D</i>	-0.956	*	$y = -91.461x + 138.200$	118.241	164.956	211.841
阿尔冈金 Algonquin	<i>A</i>	-1.000	* *	$y = -79.335x + 130.700$	120.123	174.025	227.926
	<i>B</i>	-0.951	*	$y = -67.826x + 100.200$	63.655	126.626	189.767
	<i>C</i>	-0.951	*	$y = -79.641x + 106.160$	66.906	120.637	174.367
	<i>D</i>	-0.995	* *	$y = -91.654x + 125.740$	94.798	141.342	188.056
保定 Baoding	<i>A</i>	-0.963	*	$y = -101.550x + 135.100$	101.300	143.395	185.489
	<i>B</i>	-0.956	*	$y = -105.430x + 136.340$	99.589	140.144	180.698
	<i>C</i>	-0.951	*	$y = -78.104x + 99.073$	52.704	107.461	162.218
	<i>D</i>	-0.980	*	$y = -66.969x + 106.470$	80.424	144.251	208.248
WL-232	<i>A</i>	-0.976	*	$y = -89.847x + 112.400$	71.184	118.925	166.496
	<i>B</i>	-0.962	*	$y = -77.892x + 92.721$	39.014	93.771	148.700
	<i>C</i>	-0.958	*	$y = -76.570x + 86.530$	25.838	81.622	137.577
	<i>D</i>	-0.995	* *	$y = -65.653x + 95.028$	52.190	117.385	182.580
敖汉 Aohan	<i>A</i>	-0.897		$y = -89.145x + 104.430$	56.468	104.552	152.464
	<i>B</i>	-0.969	*	$y = -84.589x + 109.890$	70.500	121.150	171.800
	<i>C</i>	-0.988	*	$y = -79.490x + 90.405$	33.196	86.927	140.828
	<i>D</i>	-0.981	*	$y = -138.570x + 164.230$	110.198	140.999	171.971
中苜 1 号 Zhongmu No. 1	<i>A</i>	-0.965	*	$y = -98.364x + 117.100$	73.238	116.701	160.164
	<i>B</i>	-0.918		$y = -75.791x + 106.510$	71.184	127.652	183.949
	<i>C</i>	-0.979	*	$y = -80.520x + 99.845$	52.875	105.921	159.138
	<i>D</i>	-0.961	*	$y = -108.190x + 143.620$	108.487	148.015	187.543

注:*A* 为相对发芽率与 NaCl 浓度的关系,*B* 为相对单株鲜质量与 NaCl 浓度的关系,*C* 为相对根长与 NaCl 浓度的关系,*D* 为相对苗高与 NaCl 浓度的关系。* 表示相关性显著($P=0.05$),* * 表示相关性极显著($P=0.01$)。

Note:*A*. The relationship of relative germination rate and NaCl concentration;*B*. The relationship of relative single fresh weight and NaCl concentration;*C*. The relationship of relative root length and NaCl concentration;*D*. The relationship of relative height and NaCl concentration. *. Significant difference($P=0.05$),* *. High significant difference($P=0.01$).

表 4 8 个紫花苜蓿品种在不同浓度 NaCl 培养基中的游离脯氨酸含量(质量分数)

Table 4 Free proline content of 8 alfalfa varieties in different NaCl concentrations in agar medium

品 种 Variety	不同浓度 NaCl 培养基中游离脯氨酸含量/% Free proline content in different NaCl concentration in agar medium					相对游离脯 氨酸含量 (170 mmol/L NaCl) Relative free proline content
	0 mmol/L	50 mmol/L	85 mmol/L	120 mmol/L	170 mmol/L	
三得利 Sandity	0.125	0.246 C	0.614 C	0.622 F	1.156 C	9.29
巨人 201 Ameristand 201	0.102	0.166 D	0.547 C	1.330 A	1.440 A	14.06
金皇后 God empress	0.113	0.143 D	0.319 D	0.506 G	1.142 C	10.15
阿尔冈金 Algonquin	0.090	0.419 A	1.085 A	1.139 B	1.250 B	13.95
保定 Baoding	0.087	0.167 D	0.369 D	1.030 C	1.105 C	12.77
WL-232	0.114	0.310 B	0.760 B	0.903 D	0.963 D	8.46
敖汉 Aohan	0.137	0.164 D	0.559 C	0.759 E	0.862 E	6.30
中苜 1 号 Zhongmu No. 1	0.119	0.179 D	0.629 C	0.870 D	0.960 D	8.05
平均 Average	0.111	0.224	0.610	0.895	1.110	

由表 4 可以看出,随着培养基中 NaCl 浓度(50, 85,120,170 mmol/L)的增加,各品种紫花苜蓿的游离脯氨酸含量均呈上升趋势,在 170 mmol/L NaCl 胁迫下,各品种紫花苜蓿的游离脯氨酸含量增加幅度均最大,但增加幅度因品种不同而存在差异。方差分析结果(表 4)表明,MS 培养基中 NaCl 浓度为 0 mmol/L 时,各品种紫花苜蓿的游离脯氨酸含量差异不显著,但随着培养基中 NaCl 浓度(50,85, 120,170 mmol/L)的增加,各品种紫花苜蓿的游离脯氨酸含量差异均达到极显著水平($P<0.01$)。说明盐胁迫对紫花苜蓿的游离脯氨酸含量有极显著影响,各品种间游离脯氨酸含量差异也达到极显著水平。

2.4 8 个紫花苜蓿品种苗期耐盐性的综合评价

耐盐性是一个较为复杂的性状,鉴定一个品种的耐盐性应采用若干性状进行综合评价,但对各个指标不能赋予相同权重,必须根据各个指标与耐盐性的密切程度进行权重分配^[17]。首先将相对发芽率、相对根长、相对苗高、相对单株鲜质量 4 个形态指标盐胁迫浓度的适宜值、临界值和极限值,以及相对游离脯氨酸含量共 13 组数据,用五级评分法换算成相对指标进行定量表示,这样各性状因数值大小和变化幅度不同而产生的差异即可消除,其换算公式如下:

$$D=(Hn-Hs)/5, \tag{1}$$

$$E=(H-Hs)/D. \tag{2}$$

式中: Hn 为各指标测定的最大值, Hs 为各指标测定的最小值, H 为各指标测定的任意值, D 为得分极差(每得 1 分之差), E 为各品种不同耐盐指标的得分。先将各指标测定的最大值定为 5 分,最小值定为 1 分,求出 D 值后代入公式(2),再求出任一测定值的应得分 E ;最后根据各指标的变异系数,确定各指标参与综合评价的权重系数矩阵。其计算公式为:

$$\text{任一指标权重系数}(A)=\frac{\text{任一指标变异系数}}{\text{各指标变异系数之和}}.$$

根据对各耐盐指标得分(E)的计算结果,分别得到以上 13 项指标的权重系数矩阵为 A (0.09, 0.08,0.10,0.10,0.05,0.03,0.16,0.10,0.08, 0.08,0.03,0.02,0.08),用 R (E 的转置矩阵)表示紫花苜蓿品种各个指标所达到的水平(E)的单项鉴别矩阵,然后进行复合运算,获得各紫花苜蓿品种的综合评价指数(即综合评价得分, B),即: $B=AR=(2.379,2.467,3.095,2.369,2.077,0.310,0.885,$

$1.474)$ 。

根据综合评价指数的大小,可得 8 个品种紫花苜蓿品种苗期耐盐性的排序(表 5)。从表 5 可以看出,综合评价指数大于 3 分的苜蓿品种仅有“金皇后”1 个,其在 8 个紫花苜蓿品种中综合评价最优,属于耐盐性较好的品种;综合评价指数小于 1 分的品种有 2 个,分别为“敖汉”和“WL-232”,其属于不耐盐品种;其他 5 个品种综合评价指数为 1~3 分,耐盐性属于中等水平。从以上结果可知,紫花苜蓿不同品种间的耐盐性差异很大。

表 5 8 个紫花苜蓿品种苗期耐盐性的综合评价结果

Table 5 Results of integrated evaluation of 8 alfalfa varieties in seedling stage

品 种 Variety	综合评价指数 Integrated evaluation	耐盐性排名 Order of salt resistance
三得利 Sandity	2.379	3
巨人 201 Ameristand201	2.467	2
金皇后 God empress	3.095	1
阿尔冈金 Algonquin	2.369	4
保定 Baoding	2.077	5
WL-232	0.310	8
敖汉 Aohan	0.885	7
中苜 1 号 Zhongmu No. 1	1.474	6

3 讨 论

本研究结果表明,培养基中不添加或仅添加 50 mmol/L NaCl 时,各供试紫花苜蓿品种种子均可以正常萌发生长,且 50 mmol/L NaCl 有利于紫花苜蓿生长,而高浓度 NaCl(≥ 85 mmol/L)使紫花苜蓿种子的萌发和生长均变得缓慢,这与马进等^[20]的研究结果一致。低浓度 NaCl 对紫花苜蓿种子萌发和生长有促进作用,可能与低盐促进细胞渗透^[21],或微量无机离子(Na^+)对呼吸酶有激活作用^[20]有关。本研究结果还表明,在 120 和 170 mmol/L NaCl 胁迫下,各苜蓿品种耐盐性差异较大,这与韩清芳等^[13]的研究结果一致。据此认为,在组织培养条件下进行紫花苜蓿耐盐性鉴定时,培养基中的 NaCl 浓度以 120~170 mmol/L 为宜。

对本试验数据的相关性和回归分析结果表明,NaCl 浓度、紫花苜蓿品种及其互作,对相对发芽率、相对单株鲜质量、相对根长、相对苗高均有显著影响,不同品种对盐胁迫的耐受能力差异较大。随着 NaCl 浓度的升高,紫花苜蓿的相对发芽率、相对单株鲜质量、相对根长和相对苗高均呈下降趋势,这与耿华珠^[10]、于卓等^[22]、翁森红等^[23]的研究结果一致。可见相对发芽率、相对单株鲜质量、相对根长以

及相对苗高均能如实地反映紫花苜蓿的耐盐性。

游离脯氨酸含量与植物耐盐性的关系迄今为止仍有争议,在中低盐浓度胁迫下,适当地合成和积累脯氨酸有利于细胞吸水及保护细胞质中的酶活性。但也有研究者认为,脯氨酸积累可能是植物受到盐害的结果,脯氨酸的积累量与植物的耐盐性呈负相关^[24]。王运琦等^[3]、田瑞娟等^[25]的研究结果显示,游离脯氨酸含量可以作为紫花苜蓿耐盐性的评价指标。本试验中,在 170 mmol/L NaCl 胁迫下,紫花苜蓿品种、NaCl 浓度及其互作对游离脯氨酸含量有极显著影响,各供试品种的游离脯氨酸含量随 NaCl 浓度的增加而增大,但各品种的增加幅度不同。由本试验结果可知,在 170 mmol/L NaCl 胁迫下的脯氨酸含量变化率,可作为鉴定紫花苜蓿品种耐盐性鉴定的生理指标。

耐盐能力的大小是植物多种代谢的综合表现,如果根据单一指标来评价植物的耐盐性,将不能客观地反映植物的真实耐盐性。因此,只有对多种指标进行综合分析,才能客观评价植物的真实抗盐性^[3]。根据综合评价指数,本试验中耐盐性最高的紫花苜蓿品种是“金皇后”,其适宜在土壤盐碱含量较高的地区种植;而耐盐性最差的是“敖汉”和“WL-232”,盐碱地应尽量避免选种这 2 个品种。

综上所述,本试验利用组织培养技术,研究了 NaCl 胁迫下 8 个紫花苜蓿品种的发芽率、单株鲜质量、根长、苗高以及游离脯氨酸含量,并对相对发芽率、相对单株鲜质量、相对根长、相对苗高以及相对脯氨酸含量 5 项指标进行了综合分析,得出 8 个紫花苜蓿品种耐盐性的排序为“金皇后”>“巨人 201”>“三得利”>“阿尔冈金”>“保定”>“中苜 1 号”>“敖汉”>“WL-232”。

【参考文献】

- [1] Flowers T J. Salinisation and horticultural production [J]. *Scientia Horticulturae*, 1999, 78: 1-4.
- [2] 佟有丽,冯君伟,李玉花. 植物抗盐胁迫研究进展 [J]. *生物技术通讯*, 2008, 19(1): 138-140.
Tong Y L, Feng J W, Li Y H. Advances in research on plant resistance to salt stress [J]. *Letters in Biotechnology*, 2008, 19(1): 138-140. (in Chinese)
- [3] 王运琦,吴欣明,刘建宁,等. 引进紫花苜蓿耐盐性的评价 [J]. *草业与畜牧*, 2009, 160(3): 22-28.
Wang Y Q, Wu X M, Liu J N, et al. The evaluation of salt tolerance at seeding stage alfalfa for introduced [J]. *Prataculture & Animal Husbandry*, 2009, 160(3): 22-28. (in Chinese)
- [4] 应天玉,刘国生,姜中珠. 植物耐盐的分子机理 [J]. *东北林业大学学报*, 2003, 32(1): 31-33.
Ying T Y, Liu G S, Jiang Z Z. Molecule mechanism for salt tolerance of plant [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2003, 32(1): 31-33. (in Chinese)
- [5] 曹 原,刘志学,黄晔俊. 冬小麦成熟胚愈伤组织诱导及分化 [J]. *上海大学学报:自然科学版*, 2004, 10(5): 503-507.
Cao Y, Liu Z X, Hang Y J. Induction and differentiation of the callus from mature embryos of winter wheat [J]. *Journal of Shanghai University: Natural Science Edition*, 2004, 10(5): 503-507. (in Chinese)
- [6] 杨青川,孙 彦,康俊梅. 紫花苜蓿耐盐相关基因克隆研究进展 [J]. *草地学报*, 2005, 9(3): 253-256.
Yang Q C, Sun Y, Kang J M. Research on the advancement of salt tolerant gene in alfalfa [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2005, 9(3): 253-256. (in Chinese)
- [7] 杨青川. 紫花苜蓿耐盐分子标记初步鉴定 [J]. *中国农业科学*, 2005, 38(3): 606-611.
Yang Q C. Identification of molecular marker to salt tolerance gene in alfalfa [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(3): 606-611. (in Chinese)
- [8] Al-Khatib-M, Ncneilly T, Collins J C. Between and with in culture variability in salt tolerance in Lucerne [J]. *Genetic Resources and Crop Evaluation*, 1994, 41: 159-164.
- [9] Ben Chanbane A. Salt tolerance variability of wild alfalfa during germination [J]. *Investigation Agraria, Production Protection Vegetables*, 1993, 8(1): 29-35.
- [10] 耿华珠. 苜蓿耐盐鉴定初报 [J]. *中国草地*, 1990, 12(2): 69-71.
Geng H Z. Primary research on salt stress on salt-tolerance identification [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 1990, 12(2): 69-71. (in Chinese)
- [11] 萧 冰. 五种豆科牧草耐盐临界值、极限值的研究 [J]. *草业科学*, 1994, 11(3): 70-72.
Xiao B. Study on critical and ultimate salt-tolerant valve of five leguminous grasses [J]. *Pratacultural Science*, 1994, 11(3): 70-72. (in Chinese)
- [12] 周丽霞. 盐分含量对不同秋眠性苜蓿出苗与生长的影响 [J]. *草业科学*, 1998, 15(2): 55-59, 61.
Zhou L X. Effects of soil salinity on germination and growth of different dormant alfalfa [J]. *Pratacultural Science*, 1998, 15(2): 55-59, 61. (in Chinese)
- [13] 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.
Han Q F, Li C W, Jia Z K. The study on salt tolerance of different alfalfa varieties in germinating period [J]. *Acta BotBo-realOccidentSin*, 2003, 23(4): 597-602. (in Chinese)
- [14] 刘春华. 六十九个母性品种耐盐性及其两个耐盐生理指标的研究 [J]. *草业科学*, 1993, 10(6): 16-22.
Liu C H. Studies on the salt tolerance of 69 alfalfa cultivars and two physiological indicators concerning the tolerance [J]. *Pratacultural Science*, 1993, 10(6): 16-22. (in Chinese)
- [15] 高俊凤. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 228-231.

- Gao J F. Experimental guidance for plant physiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006: 228-231. (in Chinese)
- [16] 刘占彬, 袁庆华, 景启美. 9 个高羊茅品种苗期耐盐性研究 [J]. 中国草地学报, 2007, 29(6): 81-85.
- Liu Z B, Yuan Q H, Jing Q M. Study on salt tolerance of 9 *festuca arundinacea* [J]. Chinese Journal of Grassland, 2007, 29(6): 81-85. (in Chinese)
- [17] 杨宇. 多指标综合评价中赋权方法评析 [J]. 统计与决策, 2006(7): 17-19.
- Yang Y. The analytical method of assignment in comprehensive multi-index assessment [J]. Statistics and Decision, 2006(7): 17-19. (in Chinese)
- [18] 刘春华, 苏加楷, 黄文惠. 禾本科牧草耐盐性的研究 [J]. 中国草地, 1992, 6(2): 12-17.
- Liu C H, Sun J K, Huang W H. Studies on the salt-tolerant forage grass cultivars [J]. Chinese Journal of Grassland, 1992, 6(2): 12-17. (in Chinese)
- [19] 林栖凤, 李冠一. 植物耐盐性研究进展 [J]. 生物工程进展, 2000, 20(2): 20-25.
- Lin X F, Li G Y. Research progress in salt tolerance in plants [J]. Progress in Biotechnology, 2000, 20(2): 20-25. (in Chinese)
- [20] 马进, 王小德, 郑钢. 组织培养下盐胁迫紫花苜蓿种子的萌发特性研究 [J]. 种子, 2008, 27(7): 29-31.
- Ma J, Wang X D, Zheng G. The effect of seed germination of salt-tolerant on alfalfa *in vitro* culture [J]. Seed, 2008, 27(7): 29-31. (in Chinese)
- [21] 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.
- Liu Z Q, Zhang S C. Plant stress physiology [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1994: 251-254. (in Chinese)
- [22] 于卓, 孙祥, 张文忠, 等. 苜蓿品种间种子萌发及苗期耐盐性差异的研究 [J]. 干旱区资源与环境, 1993, 7(2): 106-111.
- Yu Z, Sun X, Zhang W Z, et al. Studies on the differences of salt tolerance between seed germination and seedling of alfalfa cultivars [J]. Journal of Arid Land Resources & Environment, 1993, 7(2): 106-111. (in Chinese)
- [23] 翁森红, 蒋九泉, 王承斌. 牧草耐盐性鉴定指标和方法的初步研究 [J]. 中国草地, 1992(1): 30-34.
- Weng S H, Jiang Y Q, Wang C B, et al. A primary study of the identification of salt tolerant indexes and methods of forage crops [J]. Chinese Journal of Grassland, 1992(1): 30-34. (in Chinese)
- [24] 王丽梅, 李青松, 周春菊, 等. 无菌培养条件下不同基因型小麦耐盐性及其生理机制研究 [J]. 干旱地区农业研究, 2009, 27(4): 99-104.
- Wang L M, Li Q S, Zhou C J, et al. Study on salt tolerance of different winter wheat genotypes and their physiological mechanism under sterile condition [J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2009, 27(4): 99-104. (in Chinese)
- [25] 田瑞娟, 杨静慧, 梁国鲁, 等. 不同品种紫花苜蓿耐盐性研究 [J]. 西南农业大学: 自然科学版, 2006, 28(6): 933-936.
- Tian R J, Yang J H, Liang G L, et al. Salt tolerance in different varieties of alfalfa [J]. Journal of Southwest Agricultural University: Natural Science Edition, 2006, 28(6): 933-936. (in Chinese)

(上接第 175 页)

- [4] Gantt J S, Thompson M D. Plant cytosolic ribosomal protein S11 and chloroplast ribosomal protein CS17 [J]. Journal of Biological Chemistry, 1990, 265(5): 2763-2767.
- [5] Higa S, Yoshihama M, Tanaka T, et al. Gene organization and sequence of the region containing the ribosomal protein genes *RPL13A* and *RPS11* in the human genome and conserved features in the mouse genome [J]. Gene, 1999, 240(2): 371-377.
- [6] Kamp R, Wittmann-Liebold B. Primary structure of protein S11 from *Escherichia coli* ribosomes [J]. FEBS Letters, 1980, 121(1): 117-122.
- [7] Kimura M, Kimura J, Hatakeyama T. Amino acid sequences of ribosomal proteins S11 from *Bacillus stearothermophilus* and S19 from *Halobacterium marismortui*: Comparison of the ribosomal protein S11 family [J]. FEBS Letters, 1988, 40(1/2): 15-20.
- [8] Lebrun M, Freyssinet G. Nucleotide sequence and characterization of a maize cytoplasmic ribosomal protein S11 cDNA [J]. Plant Molecular Biology, 1991, 17: 265-268.
- [9] Lott J B, Mackie G A. Sequence of a cloned cDNA encoding human ribosomal protein S11 [J]. Nucleic acids research, 1988, 16(3): 1205.
- [10] Tanaka T, Kuwano Y, Ishikawa K, et al. Nucleotide sequence of cloned cDNA specific for rat ribosomal protein S11 [J]. Journal of Biological Chemistry, 1985, 260(10): 6329-6333.
- [11] LaRoche J, Wyman K, Falkowski P G. A cDNA for *Dunaliella tertiolecta* cytosol ribosomal protein S11 [J]. Plant Physiology, 1994, 105(4): 1447-1448.
- [12] Todd R L, Joe L, Gantt J S. Ribosomal protein S11 gene from *Arabidopsis* and soybean [J]. Plant Physiology, 1994, 105(3): 1027-1028.
- [13] Mueller F, Brimacombe R. A new model for the three-dimensional folding of *Escherichia coli* 16 S ribosomal RNA II: The RNA-protein interaction data [J]. Journal of Molecular Biology, 1997, 271(4): 546-565.
- [14] Müller E C, Wittmann-Liebold B. Phylogenetic relationship of organisms obtained by ribosomal protein comparison [J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 1997, 53(1): 34-50.
- [15] Vladimirov S N, Ivanov A V, Karpova G G, et al. Characterization of the human small-ribosomal-subunit proteins by N-terminal and internal sequencing, and mass spectrometry [J]. European Journal of Biochemistry, 1996, 239: 144-149.