

# 盐胁迫对 2 种冷季型草坪草幼苗生长和生理特性的影响

陈雅琦, 苏楷淇, 李春杰

(兰州大学草地农业生态系统国家重点实验室, 兰州大学农业部草牧业创新重点实验室,  
兰州大学草地农业教育部工程研究中心, 兰州大学甘肃省西部草业技术创新中心,  
兰州大学草地农业科技学院, 甘肃 兰州 730000)

**摘要:**探讨单盐 NaCl 对带菌(E+)醉马草(*Achnatherum inebrians*)、不带菌(E-)醉马草、高羊茅品种侠客岛(*Festuca arundinacea* cv. Island)和猎狗 6 号(*F. arundinacea* cv. Hound 6)幼苗生长及生理特性的影响,明确单盐 NaCl 对幼苗苗长、根长、根冠比、抗氧化酶、渗透调节物质和丙二醛(MDA)的影响。以 E+醉马草(A1)、E-醉马草(A2)、高羊茅-侠客岛(A3)和高羊茅-猎狗 6 号(A4)为试验材料,分别采用质量分数为 0.1%、0.3%、0.5%、0.7%和 0.9%的 NaCl 溶液处理幼苗,测定苗长、根长、根冠比、脯氨酸(proline)和丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性,结合模糊隶属函数评价 4 种种质的耐盐性,采用主成分分析明确种质幼苗耐盐性的主要评价指标,并以种质幼苗相对胚根长为因变量,NaCl 浓度为自变量进行曲线回归分析,确定 4 种种质的耐 NaCl 阈值。结果表明:与对照组相比,幼苗苗长、根长随盐浓度的升高而降低,且重度盐胁迫(0.7%和 0.9%)显著抑制幼苗生长( $P<0.05$ );0.1%和 0.3% NaCl 盐胁迫可显著增加幼苗  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ( $P<0.05$ );幼苗体内 Pro 含量、POD 和 SOD 活性随着盐胁迫程度增加呈现出先上升后下降的趋势,且重度盐胁迫(=0.7%)下 3 者较对照组呈现显著上升的趋势。幼苗体内 MDA 含量随盐浓度上升而上升,与对照组相比重度盐胁迫下 MDA 含量显著增加( $P<0.05$ )。综合耐盐性从大到小依次为  $\text{A1}>\text{A2}>\text{A4}>\text{A3}$ ,POD 和 SOD 活性、根长、proline 含量为幼苗耐盐综合评价的主要指标。

**关键词:**醉马草;内生真菌;幼苗生长;生理特性;耐盐性

**中图分类号:**S688.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2021)03-0032-09

**DOI:** 10.13817/j.cnki.cycp.2021.03.005

土壤盐碱化严重危害人类的农业,工业,畜牧业等生产活动,并且对人类生存环境产生重要影响。在中

国,盐渍土壤面积约为 3 460 万  $\text{hm}^2$ ,盐渍化耕地面积近 760 万  $\text{hm}^2$ [1]。土壤盐渍化造成大面积土地难以利用,严重危害西北旱区农业和绿色产业的发展。盐渍土壤中以中性盐 NaCl 为主,中高浓度的  $\text{Na}^+$  和  $\text{Cl}^-$  对植物的生长有着严重的阻碍作用[2]。高盐生境下的植物因极高浓度的单盐离子,会出现生理干旱,同时,  $\text{Na}^+$  和  $\text{Cl}^-$  还会影响植物对土壤中其他有益营养元素离子如  $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  的吸收,产生拮抗作用[1]。此外,盐胁迫还会致使植物体内累积大量的活性氧类物质(ROS),严重时会发生膜脂过氧化现象,植物细胞脂质层被破坏,蛋白质发生分解,甚至引发 DNA 的解旋,使植物受到不可逆转的伤害[3]。植物对盐逆境的响应机制包括渗透调节作用、抗氧化酶清除系统等,如提高

**收稿日期:**2020-10-13; **修回日期:**2020-12-07

**基金项目:**国家 973 项目(2014CB138702);长江学者和创新团队发展计划(IRT-17R50);国家自然科学基金(30070546);中央高校基本科研业务费(LZUJBKY-2019-kb10);111 引智基地(B12002)资助

**作者简介:**陈雅琦(1995-),女,河北石家庄人,在读硕士。

E-mail:chenyq19@lzu.edu.cn

李春杰为通讯作者。

E-mail:chunjie@lzu.edu.cn

体内抗氧化酶(如 POD、SOD)的活性,清除因逆境产生的 ROS 以降低植物细胞伤害;提高细胞内渗透物质如脯氨酸的含量,保持植物与外界的渗透平衡以减少不必要的水分流失<sup>[4-6]</sup>。大量研究表明,幼苗阶段的良好生长对植物后期抗盐碱能力的提高有重要作用,研究盐逆境下植物幼苗阶段的生长状况与生理特性,对于阐明植物耐盐机制、选育及栽培适宜西北地区的耐盐草种、提高土地利用具有重要意义。

醉马草(*Achnatherum inebrians*)为我国西北天然草原常见草种,为禾本科芨芨草属<sup>[7]</sup>。醉马草生长快、竞争力强,并携带一种内生真菌,此内生真菌于 1994 年被发现并于 2005 年被命名为 *Epichlo gansuensis*<sup>[8-9]</sup>。研究表明,*Epichlo gansuensis* 的存在提高了醉马草对干旱、盐碱、高温等逆境的抗性<sup>[10]</sup>。近年来对醉马草的研究多集中于醉马草内生真菌共生体对非生物胁迫的响应和保护机制、优良草坪草种的选育方面。

高羊茅(*Festuca arundinacea*)为我国常用冷季型草坪草种,禾本科羊茅属,因其具有生长快、抗病害、土壤适应性广、耐粗放管理等优良草坪草特性<sup>[11]</sup>,为我国目前应用最为广泛和增长量最快的草坪草种<sup>[12]</sup>,常作为先锋草种广泛应用于住宅、公园等地。

近年来,由于土地盐渍化面积日益增加,土地资源愈发紧张,土地盐碱化已成为制约我国西北地区绿色产业发展和生态环境恢复的重要因素,故耐盐草坪草的选育与研究已成为亟待解决的关键问题。本试验比较醉马草和高羊茅的抗盐性,为醉马草作为抗盐碱化优质草坪草的应用提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

供试材料为西北地区常见禾草,共 2 属 4 种种质。分别为带菌醉马草(A1),不带菌醉马草(A2),高羊茅品种狭客岛(A3)和猎狗 6 号(A4),高羊茅种子由甘肃红瑞园林绿化工程有限公司提供。供试醉马草种子于 2019 年 8 月采自甘肃省夏河县(E 102°33', N 35°11'),镜检检验其带菌率为 100%,将其中一半醉马草种浸泡于稀释 100 倍的 70%甲基托布津 2 h 以灭菌,灭菌后再次镜检,直至确认带菌率为 0%,得到不带菌的 E-醉马草种(A2)。其后将 A1、A2、A3、A4 4 种种质在 5℃下密封保存,试验前采用物理方法打破种子休

眠<sup>[12]</sup>以供后续试验使用。

### 1.2 试验方法

试验在甘肃省兰州市榆中种质资源温室试验点(E 104°39' E, N 35°89')进行。取塑料花盆,高温 210℃灭菌后的蛭石和土壤混合为花盆基质,每盆播种 5 粒种子,置于温度(26±2)℃、湿度(42±2)%的环境下萌发。待幼苗长至 2 cm 进行盐溶液胁迫试验。分别将质量分数为 0.1%(C1)、0.3%(C2)、0.5%(C3)、0.7%(C4)、0.9%(C5)的 NaCl 溶液作为盐胁迫处理液,对 4 种种质幼苗进行胁迫处理,蒸馏水处理作为对照组 CK。第 1 次胁迫处理时各处理组均加入 15 mL 处理液,此后每 2 d 定量浇灌 1 次以保持相应盐胁迫环境,并随机摆放花盆,试验处理持续 12 周。

### 1.3 测定指标

试验结束后,每盆随机选取 3 株植物,将根部基质清洗干净,用吸水纸将根部水渍吸干后将植株放置于 4℃冰箱,以供后期测定试验指标。

1.3.1 苗长和根长 将处理好的植株地上部分和地下部分用剪刀小心分开,将地上/地下部分拉直,使用直尺测量苗长与根长。

1.3.2 根冠比 分别称量地上/地下部分的质量,依据公式根冠比=地下鲜重/地上鲜重计算根冠比。

1.3.3 Na<sup>+</sup>和 K<sup>+</sup>含量测定 参照侯小媛<sup>[13]</sup>方法,将 4 种种质幼苗连根一起整株挑起,洗净后,用蒸馏水再度漂洗,吸干水分后将茎叶和根系分开,分别称鲜重。105℃下杀青 10 min,60℃烘干后称重,其后采用火焰光度计法测定 Na<sup>+</sup>和 K<sup>+</sup>,计算 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>。

1.3.4 生理特性指标测定 参照张殿忠等<sup>[14]</sup>的磺基水杨酸法测定脯氨酸(proline)含量;参照林植芳等<sup>[15]</sup>的硫代巴比妥酸(TAB)法测定丙二醛(MDA)含量;参照袁朝兴和丁静<sup>[16]</sup>的愈创木酚法测定过氧化物酶(POD)活性,参照李合生<sup>[17]</sup>的氮蓝四唑法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性。

1.3.5 模糊隶属函数综合评价 采用模糊隶属函数法分别计算 E+和 E-醉马草种子萌发阶段及幼苗生长阶段的耐盐隶属函数值,并据此对 E+和 E-醉马草耐盐性进行综合评价。其计算公式如下:

$$\mu(X_j) = \frac{X_j - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}} \quad (1)$$

$$\mu(X_j) = \frac{X_{\max} - X_j}{X_{\max} - X_{\min}} \quad (2)$$

式中: $\mu(X_j)$ 代表第  $j$  个指标的隶属函数值; $X_j$  代表第  $j$  个指标值; $X_{\min}$ 代表第  $j$  个指标最小值; $X_{\max}$ 代表第  $j$  个指标最大值;耐盐性与指标呈正相关时采用公式(1)计算,呈负相关时则采用公式(2)进行计算。

1.3.6 单项指标主成分分析 为明确可作为对比筛选醉马草耐盐性的主要指标,对 E+和 E-醉马草的 XX 个单项指标的耐盐系数  $\omega$  分别进行主成分分析,其计算公式如下:

$\omega$ =不同混合盐胁迫处理液浓度下的单项指标平均测定值/对照组测定值

1.3.7 耐盐性评价指标 分别以 A1、A2、A3、A4 种质种子的相对胚根长为因变量( $y$ ),以 NaCl 浓度为自变量( $x$ )建立函数方程,以相对胚根长下降 50%时对应的 NaCl 浓度作为 4 种种质幼苗的耐盐阈值。

## 1.4 数据处理

采用 Excel 2010 统计数据并制图,采用 SPSS 20.0 软件进行数据分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 盐胁迫对 4 种种质幼苗生长的影响

4 种种质幼苗的苗长均随盐浓度的上升呈下降趋

势(表 1)。当盐浓度较低(0.1%和 0.3%)时,4 种种质苗长较 CK 无显著差异,且盐胁迫具有轻微促进幼苗生长作用,而高浓度盐溶液(0.7%和 0.9%)下 A4 幼苗长度较 CK 分别下降 20.80%和 21.72%,呈显著差异( $P<0.05$ )。

4 种种质幼苗的根长均随着盐浓度的上升呈现下降趋势,其中低中度盐胁迫下各种质幼苗根长与对照组无显著差距,表明轻微盐胁迫对幼苗根长无显著抑制效果;当盐浓度为 0.1%和 0.3%时,4 种种质幼苗根长趋势与苗长趋势相同,表现为较 CK 组对照无显著差异;当盐浓度为 0.9%时,A1、A2、A3 和 A4 根长较对照组分别下降了 61.54%、35.90%、39.02%和 44.73%,表现出显著差异( $P<0.05$ )(表 1)。

随着盐浓度的升高,4 种种质幼苗根冠比呈现出下降的趋势。与对照组相比,当盐浓度较低时(0.1%和 0.3%),高羊茅和醉马草根冠比呈现上升趋势;而重度盐胁迫(0.7%和 0.9%)则会显著抑制醉马草根冠比,且呈现显著差异( $P<0.05$ ),分别下降 37.14%和 54.29%;37.14%和 37.14%。高浓度盐胁迫下,4 种种质幼苗生长下降趋势为 A3>A4>A2>A1(表 1)。

表 1 盐胁迫下幼苗的苗长、根长和根冠比

Table 1 Shoot length, root length and shoot:root ratio under salt stress

处理	A1			A2			A3			A4		
	苗长/cm	根长/cm	根冠比	苗长/cm	根长/cm	根冠比	苗长/cm	根长/cm	根冠比	苗长/cm	根长/cm	根冠比
0.1%	26.36±1.42Aa	10.24±0.83Aa	0.47±0.04Aa	22.34±1.33ABa	9.44±1.09Aa	0.38±0.04Aab	23.24±1.64Aa	7.97±0.87Aa	0.20±0.05Bab	20.46±0.87Ba	6.52±0.67Ba	0.23±0.06Bab
	23.20±0.68Ab	8.58±0.59Aab	0.50±0.05Aa	20.58±1.05Aa	8.64±0.69Aa	0.47±0.07Aa	20.30±1.49Aab	6.55±0.47Bab	0.25±0.04Ba	18.82±1.19Bab	5.23±0.59Bab	0.27±0.06Ba
0.3%	20.25±0.96Abc	6.78±0.78Abc	0.44±0.04Aab	16.43±0.97Bb	5.00±0.35Abc	0.30±0.03Bbc	19.70±0.71Aabc	6.09±0.79Aab	0.21±0.06Bab	19.78±0.95Aa	5.20±0.84Aab	0.10±0.02Cc
	20.60±0.91Ab	6.45±0.64Abc	0.22±0.03Ac	16.23±0.81Bb	4.45±0.43Bc	0.22±0.01Ac	18.82±1.19Abc	4.70±0.80Bbc	0.12±0.01Bbc	16.37±0.95Bb	4.47±0.53Bb	0.10±0.02Bbc
0.7%	17.50±1.20Ac	4.05±0.32Ac	0.16±0.01Bc	15.57±0.76Bb	4.25±0.22Ac	0.22±0.02Ac	16.26±1.18ABc	3.72±0.22Ac	0.07±0.00Cc	16.18±0.84ABb	3.83±1.38Ab	0.12±0.02Abc
	20.72±0.87Ab	10.53±2.06Aa	0.35±0.04Ab	17.88±0.54Aab	6.63±0.85Bb	0.35±0.03Ab	20.42±0.62Aab	6.10±0.61Bab	0.15±0.03Babc	20.67±1.71Aa	6.93±0.77Ba	0.12±0.03Bbc

注:不同大写字母代表不同品种相同盐胁迫处理间差异显著( $P<0.05$ ),不同小写字母代表相同品种不同盐胁迫处理间差异显著( $P<0.05$ );下同

### 2.2 盐胁迫对 4 种种质幼苗 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ 的影响

4 种种质幼苗的  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  均随盐浓度的升高呈显著上升的趋势,且皆在盐浓度为 0.1%及以上时与对照组显著差异( $P<0.05$ )(图 1)。A1、A2、A3、A4 均在盐浓度为 0.9%时  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  到达顶峰,分别为对照组的 1.70、2.00、2.82 和 2.75 倍。在不同 NaCl 环境

下,4 种种质幼苗的  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  大小排序均依次为 A3>A4>A2>A1(图 1)。

### 2.3 盐胁迫对 4 种种质幼苗 proline 含量的影响

任一盐浓度下,4 种种质幼苗的 proline 含量均显著高于其对照组(图 2),且 4 种种质幼苗的 proline 含量均随盐浓度的上升呈先升高再下降的趋势,在 0.5%

中度盐胁迫时最大,较对照组分别提高了 76.50%、64.61%、33.78%和 64.88%。此外,4 种种质幼苗的 proline 含量大小排序依次为 A1>A2>A4>A3,且 A1 与 A2 的 proline 含量显著高于 A3 与 A4。说明醉马草可提高 proline 的含量,减缓 NaCl 引起的渗透胁迫,且内生真菌的存在显著提高了 A1 抗盐胁迫的能力。

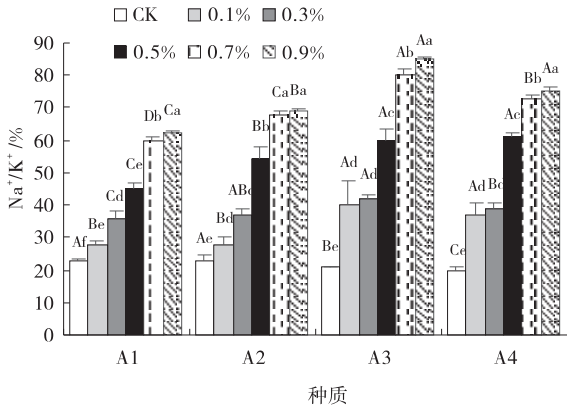


图 1 盐胁迫下幼苗 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>

Fig. 1 Effects of salt stress on Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ratio of seedlings

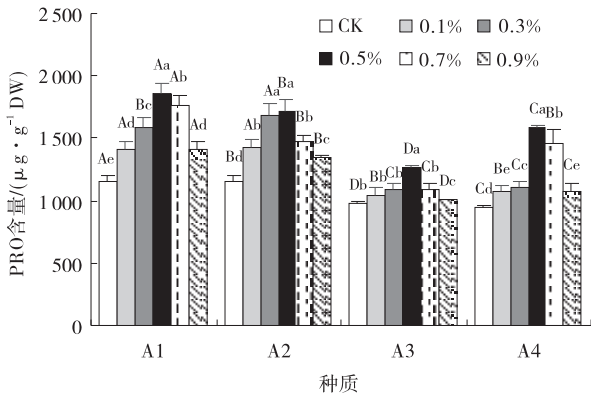


图 2 盐胁迫下幼苗 proline 含量

Fig. 2 The proline concentration of seedlings under salt stress

## 2.4 盐胁迫对 4 种种质幼苗 MDA 含量的影响

4 种种质幼苗的 MDA 含量均随盐浓度的升高呈显著上升趋势,且皆在盐浓度为 0.1%及以上时与对照组差异显著( $P<0.05$ ) (图 3)。其中 A1、A2、A3、A4 均在当盐浓度为 0.9%时 MDA 含量最大,分别为对照组的 0.84、0.95、1.63 和 0.43 倍。A3 的 MDA 含量在盐浓度为 0.3%和 0.5%的中度盐胁迫下无显著差异,A4 的 MDA 含量在盐浓度为 0.1%、0.3%和 0.5%、0.7%的低、中重度盐胁迫下无显著差异。表明盐胁迫可显著提高醉马草幼苗的 MDA 含量,重度盐胁迫可显著提高羊茅幼苗的 MDA 含量。4 种草坪种质 MDA 含量大小排序依次为 A3>A4>A2 和 A1,说明高浓度 NaCl 胁迫加深细胞质膜的受损程度。

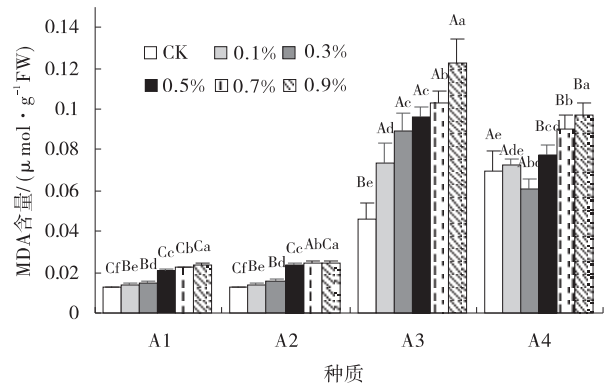


图 3 盐胁迫下幼苗 MDA 含量

Fig. 3 The MDA concentration of seedlings under salt stress

## 2.5 盐胁迫对 4 种种质幼苗 POD 活性的影响

供试任一盐浓度下,4 种种质禾草幼苗的 POD 活性均显著高于其对照组(图 4),且 4 种种质禾草幼苗的 POD 活性均随盐浓度的上升呈现先升高再下降的趋势,在 0.5%中度盐胁迫时到达顶峰,较对照组分别提高了 28.09%、28.57%、14.59%和 19.64%;在 0.7%和 0.9%的重度盐胁迫下出现显著降低,较峰值分别降低了 5%和 7.21%;5%和 6.38%;6.36%和 9.56%;4.22%和 4.55%。此外,4 种禾草幼苗的 POD 活性大小排序依次为 A1>A2>A4>A3,且 A1 与 A2 的 POD 活性显著高于 A3 与 A4( $P<0.05$ )。

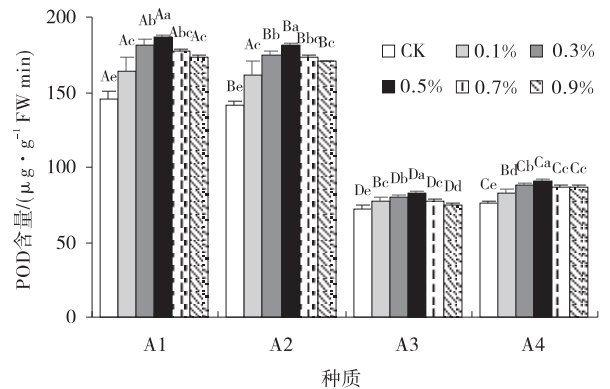


图 4 盐胁迫下幼苗 POD 活性

Fig. 4 The POD activity of seedlings under salt stress

## 2.6 盐胁迫对 4 种种质幼苗 SOD 活性的影响

任一盐浓度下,4 种种质幼苗的 SOD 活性均显著高于其对照组(图 5),且 4 种幼苗的 SOD 活性均随盐浓度的上升呈现先升高再下降的趋势。A1 和 A2 在 0.7%重度盐胁迫时达到顶峰,较对照组分别提高了 1.18 倍和 0.82 倍;而 A3 和 A4 在 0.5%中度盐胁迫时到达顶峰,较对照组分别提高了 0.51 倍和 0.40 倍。

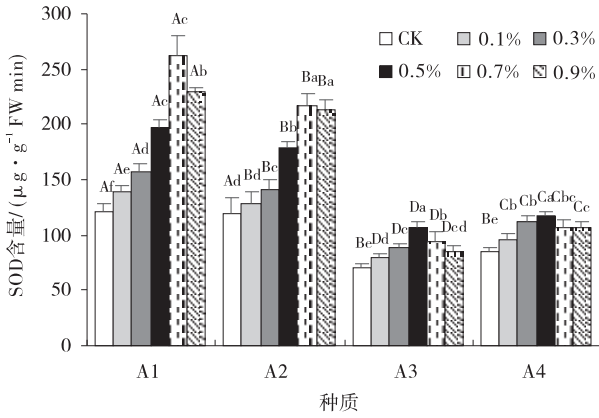


图5 盐胁迫下幼苗SOD活性

Fig. 5 The SOD activity of seedlings under salt stress

4种禾草幼苗的POD活性大小排序依次为A1>A2>A4>A3,且A1与A2的SOD活性显著高于A3与A4。重度盐胁迫下A1和A2的抗氧化酶活性最高,而A3和A4的抗氧化作用显著降低。由此说明内生真菌的存在可显著提高醉马草的抗氧化酶的活性。

## 2.7 4种种质幼苗综合耐盐性评价

4种种质幼苗隶属函数值排序及耐盐性从大到小依次为:A1>A2>A4>A3(表2)。

4种种质幼苗耐盐性指标主成分分析的第I主成分特征值 $\lambda_1=4.469$ ,贡献率为55.864%,耐盐性指标所对应的特征向量中,POD测定和SOD测定数值较大,分别为0.403和0.421,主要反映出NaCl胁迫下4种禾草幼苗的抗氧化酶活性;第II主成分特征值 $\lambda_2=2.751$ ,贡献率为34.391%,对应的特征向量中,根长和MDA含量数值较大,分别为0.572和0.482,主要反映出NaCl胁迫下胚根生长和膜结构的完整性(表3)。综上所述,I和II主成分分别反映了4种禾草幼苗8个耐盐性指标90.255%的信息,对4种禾草幼苗耐盐性综合评价的指示意义较大。因此,POD活性、SOD活性、根长、proline含量可作为4种禾草幼苗耐盐性综合评价的主要指标。

表2 盐胁迫下4种种质幼苗隶属函数值

Table 2 Function values of four germplasm seedlings under salt stresses

品种	苗长/cm	根长/cm	根冠比	Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup>	Proline含量	MDA含量	POD活性	SOD活性	隶属函数值	排序
A1	0.577	0.325	0.466	0.544	0.426	0.495	0.645	0.468	0.493	1
A2	0.537	0.354	0.329	0.592	0.409	0.589	0.603	0.495	0.488	2
A3	0.365	0.374	0.243	0.585	0.345	0.418	0.505	0.413	0.406	4
A4	0.525	0.374	0.226	0.589	0.364	0.268	0.633	0.565	0.443	3

表3 4种种质幼苗耐盐性指标的主成分分析

Table 3 Principal component analysis of salt tolerance index in seedlings of four germplasm

主成分	指标特征向量								特征值	贡献率/%	累积贡献率/%
	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8			
I	0.375	0.153	0.285	0.455	0.368	0.096	0.421	0.403	4.469	55.864	55.864
II	0.338	0.482	0.464	0.067	0.308	0.572	0.105	0.007	2.751	34.391	90.255

注:X<sub>1</sub>~X<sub>8</sub>依次为苗长、根长、根冠比、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>、游离脯氨酸、MDA、POD、SOD

将4种禾草幼苗的相对胚根长度与盐浓度进行曲线回归分析,结果表示A1、A2、A3、A4的相对胚根长与盐浓度之间均呈现良好的三次曲线函数关系(表4)。由建立的最优函数方程可知,在幼苗生长阶段,A1、A2、A3、A4的耐盐阈值分别为0.061%、0.050%、0.002%、0.021%。从大到小依次为A1>A2>A4>A3。综上所述,在幼苗生长阶段,A1耐盐性最优、A3为最差。

## 3 讨论

### 3.1 盐胁迫对幼苗生长的影响

植物的生长会受到多种环境因素的影响,如干旱,水涝,盐碱胁迫等。其中,盐碱胁迫对植物的生长影响最明显<sup>[18]</sup>。试验结果显示,醉马草和高羊茅草种在不同浓度的盐溶液中,其苗长和根长均呈现随着盐浓度上升而下降的趋势,根冠比也呈现出相同的变化趋势

且差异显著 ( $P < 0.05$ ), 并且由于根重和苗重同时下降, 说明盐胁迫对高羊茅和醉马草的地下部分影响较大。相比于高羊茅, 醉马草的根冠比在重度盐胁迫下较对照组下降略大, 这可能是醉马草地下部分生物量的下降引起较为显著的根冠比的下降。但是王宝山<sup>[18]</sup>证明当植物处于盐渍土壤时, 植物地上部分的生长受抑制程度明显大于根。这主要是因为成熟叶片

表 4 盐胁迫下 4 种种质幼苗生长阶段耐盐性回归分析

Table 4 Regression analysis of salt tolerance in seedlings of four germplasm under salt stress

品质	回归方程	$R^2$	耐盐阈值/%
A1	$y = 0.858 + 0.246x_1 - 0.184x_1^2 + 0.022x_1^3$	0.905**	0.061
A2	$y = 0.962 + 0.014x_2 - 0.026x_2^2 + 0.001x_2^3$	0.906**	0.050
A3	$y = 0.719 - 0.063x_3 - 0.026x_3^2 + 0.003x_3^3$	0.927**	0.002
A4	$y = 0.812 - 0.166x_4 + 0.005x_4^2 + 0.001x_4^3$	0.855**	0.021

### 3.2 盐胁迫对幼苗生理特性的影响

当植物处于逆境环境时, 植物细胞质膜透性增加, 体内无机盐和离子等会渗透到外界。植物中  $\text{Na}^+$  的积累会影响植物对其他离子如  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  等的吸收而产生拮抗作用<sup>[19]</sup>。离子毒害会破坏植物的营养结构, 影响植物正常的生理代谢活动,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  被视为衡量植物体内离子平衡的指标<sup>[20]</sup>。 $\text{K}^+$  可以调控植物体的离子平衡, 提高促进渗透调节的效率<sup>[21]</sup>。本研究中当高羊茅和醉马草处于盐胁迫环境下,  $\text{Na}^+$  的吸收呈现上升趋势, 说明带菌醉马草具有较强的耐盐碱性, 且吸收和平衡  $\text{Na}^+$  的能力较高, 这与岳利军<sup>[22]</sup>对沙芥 (*Pugionium cornutum*) 的研究结果一致。

渗透调节是植物对抗逆境胁迫最重要且最为有效的机制<sup>[23]</sup>。渗透调节通过植物调节自身的渗透压, 改变水势, 从而使得细胞维持一定的压力, 减少植物失水。在盐分的压力下, 由于细胞外水势低于胞内水势, 细胞内水分向外倒流, 造成植物缺水, 影响体内正常生理活动。因此, 渗透调节主要是通过有机物和无机离子的互作, 降低植物水势, 维持植物体内水分运输, 减少对生理代谢活动的伤害。并且, 当植物处于盐渍环境, 某些过量离子, 如  $\text{Na}^+$  或  $\text{Cl}^-$  会抑制植物某些酶的活性, 因此, 植物在盐碱环境中细胞会合成大量有机渗透调节物质, 如脯氨酸, 可溶性糖等来降低水势, 进行渗透调节<sup>[23]</sup>。游离脯氨酸是植物体内常见的调节渗透压力的物质, 并且游离脯氨酸的变化可以看作植物对抗逆境胁迫的信号<sup>[24]</sup>。其合成和积累一方面可以

最先受到单盐胁迫, 受胁迫时间最长, 表现在鲜重的下降, 生长受到抑制, 导致叶片中叶绿素含量降低, 光合作用被严重影响, 继而地上部分的生长严重低于地下部分。因此, 本试验结果其可能的原因是醉马草中存在的内生真菌有效地减少了对地上部分的损害, 相对于地下部分生物量的下降, 间接地显著降低了根冠比。

降低细胞渗透势, 提高植物自身对水分的维持, 另一方面脯氨酸对植物体内其他酶类物质具有保护作用。并且, 因为脯氨酸是中性氨基酸, 其大量积累不会引起植物体内酸碱平衡的变化<sup>[23]</sup>。本研究当植物处于盐胁迫下, 其脯氨酸含量较对照组均呈现上升的趋势。0.5% 盐胁迫下的脯氨酸含量到达顶峰, 继而下降, 可能的原因是重度盐胁迫破坏植物体内合成和积累脯氨酸, 或者抑制酶的合成等生理活动。鲁艳等<sup>[25]</sup>对大果白刺幼苗 (*Nitraria roborowskii*) 的研究表明脯氨酸含量具有显著的清除 ROS 物质的作用, 与本文结果一致。

MDA 是膜脂过氧化的中间产物和最终产物, 其对植物的伤害表现在 MDA 与细胞中的蛋白质相结合, 破坏蛋白质原有的结构和功能<sup>[26-28]</sup>。MDA 对植物的影响包括抑制细胞中蛋白质的合成, 降低蛋白质活性等<sup>[28]</sup>。醉马草和高羊茅体内 MDA 呈现上升趋势, 说明不同盐胁迫对植物造成了伤害, 这与寇江涛<sup>[29]</sup>研究结果一致。

当植物处于盐渍土壤时, 植物体内活性氧受到影响, 积累产生大量活性氧类物质 (ROS), 引发膜脂过氧化, 对细胞膜造成破坏<sup>[23, 26]</sup>。植物清除体内活性氧类物质依靠活性清除系统, 包括 POD 和 SOD 等。其主要机理是植物在逆境中产生和积累 SOD 以清除多余的自由基等活性氧类物质, SOD 与过氧化氢酶 (CAT) 协同将  $\text{H}_2\text{O}_2$  转化为  $\text{H}_2\text{O}$ , POD 与 CAT 联合作用清除体内过量的  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 从而使二氧化碳固定的效率保

持稳定<sup>[26]</sup>。其中,POD 清除 ROS 过程与 CAT 过程不同,POD 是通过催化底物,与过氧化氢产生反应来降低 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的含量,而 CAT 则是直接催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 从而降低其含量。大量文章<sup>[30-32]</sup>表明逆境环境破坏植物体内过氧化代谢平衡,从而增加体内自由基物质,造成膜脂过氧化,使得细胞膜结构和功能遭到破坏<sup>[33]</sup>。本研究抗氧化酶在植物体内呈现先上升后下降的结果(图 4~6),可能的原因是植物体内合成和积累抗氧化酶的蛋白质等物质在高盐浓度下受到抑制,但是相较于对照组,均呈现出显著上升趋势( $P < 0.05$ ),且 A1 抗氧化酶活性较 A2、A3 和 A4 高。

### 3.3 综合耐盐性评价

模糊隶属函数法可综合各耐盐性指标,依据其隶属函数值排序综合评价 4 种禾草幼苗的耐盐性,可避免单一指标评价所带来的片面性,从而更加客观真实<sup>[33]</sup>。盐胁迫下的 A1 幼苗苗长、根长及抗氧化酶活性、脯氨酸含量等指标最优,A3 最差。本研究通过建立模糊隶属函数,最优函数方程明确了 4 种种质幼苗生长阶段的 NaCl 耐受性依次为 A1>A2>A4>A3,和单一指标评价结果一致。综上所述,带菌醉马草对 NaCl 单盐胁迫具有耐受性,作为西北盐碱地区的新型草坪草种具有发展潜力,可提高西北地区土壤资源利用率并缓解盐渍化带来的危害。

## 4 结论

以醉马草和高羊茅幼苗作为研究对象,分析了不同浓度的单盐胁迫(0.1%,0.3%,0.5%,0.7%和 0.9%)NaCl 对幼苗生长和幼苗生理的影响,并对其耐盐性进行综合评估。结果表明:1)随盐浓度的升高,4 种种质草种的幼苗生长均受到抑制。2)轻度盐胁迫(0.1%和 0.3%)对于带菌及不带菌醉马草的幼苗生长具有一定的促进作用。3)4 种种质的综合耐盐性依次为:带菌醉马草>不带菌醉马草>高羊茅“猎狗 6 号”>高羊茅“侠客岛”。带菌醉马草耐盐性最佳并具有抗盐碱化的优良草坪草种特性,具有成为西北地区优良草坪草种的巨大潜力。

#### 参考文献:

[1] 刘凤歧,刘杰淋,朱瑞芬,等. 4 种燕麦对 NaCl 胁迫的生理响应及耐盐性评价[J]. 草业学报,2015,24(1):183-189.  
[2] 杨景宁,王彦荣. NaCl 胁迫对四种荒漠植物种子萌发的影响[J]. 草业学报,2012,21(05):32-38.

[3] 张蓉蓉. 土壤盐碱化的危害及改良方法[J]. 现代农业科技,2019(21):178-179.  
[4] 王宝山. 逆境植物生物学[M]. 北京:高等教育出版社,2010  
[5] 吴寒. 活性氧在植物体内的作用及其清除体制[J]. 广东蚕业,2018,52(3):18-20.  
[6] 林海,殷文慧,董颖博,等. 沉水植物对逆境胁迫的响应研究进展[J]. 环境科技,2019,32(1):63-67+73.  
[7] 纪亚君. 醉马苜蓿草的研究进展[J]. 安徽农业科学,2009,37(5):2154-2156+2169.  
[8] BRUEHL G W, KAISER W J, KLEIN R E. An endophyte of *Achnatherum inebrians*, an intoxicating grass of north-west China[J]. Mycologia,1994,86(6):773-776.  
[9] LI C J, NAN Z B, VOLKER H P, et al. A new *Neothlyphodium* species symbiotic with drunken horse grass (*Achnatherum inebrians*) in China[J]. Mycologia,2004,90(1):141-147.  
[10] 陈雅琦,苏祺潜,陈泰祥,等. 混合盐碱胁迫对醉马草种子萌发及幼苗生理特性的影响[J]. 草业学报,2021,30(3):137-157.  
[11] 任响霏,许金凤,朱瑾,等. 模拟干旱胁迫下镁对高羊茅种子萌发的影响[J]. 草原与草坪,2017,37(3):8-13.  
[12] 宋娅丽,王克勤,张倩,等. NaCl 胁迫对 3 种冷季型草坪草种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 草原与草坪,2018,38(01):10-17+24.  
[13] 缙小媛. 内生真菌对醉马草耐盐性的影响研究[D]. 兰州:兰州大学,2007.  
[14] 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[J]. 植物生理学通讯,1990(4):62-65.  
[15] 林植芳,李双顺,林桂珠,等. 水稻叶片的衰老与超氧化物歧化酶活性及脂质过氧化作用的关系[J]. 植物学报,1984,26(6):605-615.  
[16] 袁朝兴,丁静. 水分胁迫对棉花叶片中 IAA 含量、IAA 氧化酶和过氧化物酶活性的影响[J]. 植物生理学报,1990,16(2):179-184.  
[17] 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.  
[18] 王宝山,邹琦,赵可夫. 高粱不同器官生长对 NaCl 胁迫的响应及其耐盐阈值[J]. 西北植物学报,1997(3):279-285.  
[19] AHMAD P, SHARMA S, SRIVASTAVA P S. Different physio-biochemical responds of high yielding varieties of Mulberry (*Morus alba*) under alkalinity (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) stress *in vitro*[J]. PhysiolMolBiol Plants. 2006,12(1):59-66.

- [20] 李品芳,侯振安,龚元石. NaCl 胁迫对苜蓿和羊草苗期生长及养分吸收的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2001, 17(2):211-217.
- [21] 马爽. 不同类型盐胁迫下宽叶蔓豆(半野生大豆)幼苗离子动态平衡与渗透调节研究[D]. 长春:东北师范大学, 2013.
- [22] 岳利军,袁坤,李海伟,等. 荒漠植物沙芥苗期对不同浓度 NaCl 的适应机制[J]. 草业学报, 2016, 25(1):144-152.
- [23] 肖雯,贾恢先,蒲陆梅. 几种盐生植物抗盐生理指标的研究[J]. 西北植物学报, 2000, 20(5):818-825.
- [24] RAI S, LUTHRA R, KUMAR S. Salt-tolerance mutants in glycophytic salinity responds (GSP) genes in *Catharthus roseus* [J]. Theor Appl Genet, 2003, 106(2): 221-230.
- [25] 鲁艳,雷加强,曾凡江,等. NaCl 处理对梭梭生长及生理生态特征的影响[J]. 草业学报, 2014, 23(3):152-159.
- [26] 赵可夫. 作物抗性生理[M]. 北京:农业出版社, 1990:249-313.
- [27] 张玉霞,李志刚,李美娟,等. 四种草地早熟禾抗盐碱生理生化特性的研究[J]. 中国农学通报, 2004, 20(5):209-213.
- [28] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J]. 植物生理学通讯, 1991(2):84-90.
- [29] 寇江涛. 盐胁迫下紫花苜蓿种子萌发对外源 2,4-表油菜素内酯诱导的生理响应[J]. 草原与草坪, 2020, 40(5):8-14.
- [30] 陈新红,叶玉秀,王永俊,等. 马铃薯 StTrxF 基因的克隆与功能分析[J]. 中国农业大学学报, 2019, 24(2):26-33.
- [31] Xu N, Chu Y, Chen H, *et al.* Rice transcription factor Os MADS52 modulates root growth and confers salinity tolerance via the ABA-mediated regulatory pathway and ROS scavenging [J]. PLo S Genetics, 2018, 14(10): e1007662.
- [32] 赵怀玉,林鸿宣. 植物响应盐碱胁迫的分子机制[J]. 土壤与作物, 2020, 9(2):103-113.
- [33] 田小霞,毛培春,孟林,等. 无芒雀麦苗期耐盐指标筛选及耐盐性综合评价[J]. 干旱区资源与环境, 2017, 31(10):156-161.

## Effects of NaCl stress on seedling growth and physiological responses of *Achnatherum inebrians* and *Festuca arundinacea*

CHEN Ya-qi, SU Kai-qi, LI Chun-jie

(State Key Laboratory of Grassland Agro-Ecosystems, Key Laboratory of Grassland Livestock Industry Innovation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Engineering Research Center of Grassland Industry, College of Pastoral Agricultural Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

**Abstract:** This study aimed to investigate the effects of NaCl salt on the growth and physiological responses of endophyte infected (E+) *Achnatherum inebrians* (A1), endophyte non-infected (E-) *Achnatherum inebrians* (A2), *Festuca arundinacea* cv. Island (A3) and *Festuca arundinacea* cv. Hound 6 (A4). Five NaCl concentrations (0.1%, 0.3%, 0.5%, 0.7% and 0.9%) were imposed. Shoot length, root length, shoot-root ratio, proline, malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) were analysed. The comprehensive principal component analysis was used to determine the NaCl tolerance of those four germplasm. The results indicated that shoot length and root length of seedlings decreased with the increasing NaCl concentration compared with the control; and severe salt stress (0.7% and 0.9%) significantly inhibited seedling growth (*P*



<0.05). The  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ratio was significantly increased ( $P<0.05$ ) under mild NaCl stress. The proline content and the activity of POD and SOD initially increased followed by a decrease along with the increasing NaCl stress; the values were significantly higher under severe salt stress (0.7%) compared with the CK. MDA content increased with the increasing NaCl concentration, and significantly increased under severe salt stress compared with the control group ( $P<0.05$ ). The salt tolerance followed the order of  $A1>A2>A3>A4$ , and POD, SOD, root length and proline were the main indicators for the comprehensive evaluation of salt tolerance of seedlings.

**Key words:** drunken horse grass; endophyte; seedling growth; physiological characteristics; salt tolerance

(上接 31 页)

## Analysis of the genetic diversity of *Lespedeza* in Gansu

PAN Ping-xin, MA Rui, MA Yan-jun, REN Xiao-yan

(College of Forestry Gansu Agricultural University Lanzhou, Gansu Province 730070, China)

**Abstract:** Genetic diversity and genetic structure of *Lespedeza* from Gansu were analyzed by SSR markers. Fourteen highly stable and repeatable SSRs (selected from 10 SSRs of *Medicago* and 4 SSR of *Salix oritrepha*) were used and a total of 126 alleles, of which 105 were polymorphic (83% of the total), were detected. The average number of alleles of primers was 1.91 and the average number of effective alleles was 1.51. At the species level, the average polymorphism of Shannon index (I) was 0.44. A dendrogram based on genetic distance was constructed by UPGMA method. Ten *Lespedeza* species in Gansu province were divided into 3 groups. *Lespedeza floribunda* Bunge, *L. formosa* (Vog.) Koehne were grouped together with *L. inschanica* (Maxim.) Schindl. *Lespedeza cuneata* (Dum.-Cours.) G. Don, *L. cyrtobotrya* Miq clustered, *L. cdaurica* (Laxm.) Schindl and *L. potaninii* V. Vassil were classified as the second group. *Lespedeza bicolor* Turcz and *L. virgate* (Thunb.) De were gathered as the third group. The results showed that *Lespedeza* had high genetic diversity, and SSR markers could be used as a powerful tool for the genetic analysis of inter- and intra-species of *Lespedeza*.

**Key words:** *Lespedeza*; SSR; genetic diversity