

黄原胶对盐胁迫下紫花苜蓿种子萌发及幼苗生长的影响

陈海雁,张振粉*,靳振海,何林鑫,田望军,赵亮

(甘肃农业大学草业学院,草业生态系统教育部重点实验室,甘肃省草业工程实验室,中-美草地畜牧业可持续发展研究中心,甘肃 兰州 730070)

摘要:【目的】盐胁迫降低种子活力、抑制萌发出苗,严重制约盐碱地区紫花苜蓿的生产。黄原胶已被证明能有效促进植物生长,但其对植物耐盐性的影响尚不清楚。本研究旨在阐明不同浓度黄原胶处理对盐胁迫下紫花苜蓿种子萌发期和苗期盐害的减缓效果。【方法】以紫花苜蓿品种救汉为试验材料进行水培试验,在75 mmol/L NaCl胁迫下,采用不同浓度(0.5、1.0、1.5、2.0和2.5 g/L)黄原胶处理紫花苜蓿种子,研究黄原胶对盐胁迫下紫花苜蓿种子萌发及幼苗生长的影响。【结果】1)75 mmol/L NaCl胁迫可显著抑制紫花苜蓿种子的发芽率、发芽势和发芽指数,并抑制幼苗的根长和苗长生长,降低其鲜重、干重、叶片相对含水量及叶绿素含量,同时显著升高叶片相对电导率($P<0.05$)。2)添加1.5、2.0和2.5 g/L黄原胶均能显著提高该胁迫下紫花苜蓿种子的发芽势、发芽率和发芽指数。3)该胁迫下,添加0.5~2.5 g/L黄原胶均能显著促进紫花苜蓿幼苗和根系的生长($P<0.05$),显著提高幼苗的鲜重、干重、叶片相对含水量及叶绿素含量($P<0.05$),并显著降低叶片相对电导率($P<0.05$)。【结论】黄原胶能够缓解75 mmol/L NaCl胁迫对紫花苜蓿的毒害,1.5 g/L黄原胶对盐胁迫下紫花苜蓿的缓解效果最佳。本研究为开发利用缓解盐碱地种植紫花苜蓿的生物源制剂提供了理论基础。

关键词:紫花苜蓿;盐胁迫;黄原胶;种子萌发;幼苗生长

中图分类号:S541⁺.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2023)05-0057-10

DOI:10.13817/j.cnki.cycp.2023.05.008



由于土地资源的过度开发和不合理使用,土壤盐碱化已经成为限制土壤资源利用和农作物生长的有害非生物环境因素之一^[1],严重制约农业生产和经济发展。据报道,全球盐碱地土壤种类多样、成因复杂,面积分布广泛且呈现持续增长趋势,是主要的中低产土壤类型之一^[2-3]。土壤盐渍化对植物的危害主要表现为过量的盐离子会抑制种子的萌发^[4],对植物产生

离子胁迫、渗透胁迫和氧化胁迫等^[5]。同时,盐胁迫下植物的光合作用和呼吸作用减弱,植物难以吸收水分及营养元素,最终导致其生产力降低^[6]。因此,结合我国农业发展中的问题以及盐胁迫对植物生长造成的巨大危害,寻找一种有效的、可持续的、适应性强的物质来提高作物产量并改善盐碱地具有重要意义。

紫花苜蓿(*Medicago sativa*)是一种极其重要的多年生豆科牧草,因其营养和饲用价值均位于牧草之首而在我国被广泛栽培^[7]。它不仅作为主要的饲草为家畜所食用,同时还对土壤肥力有一定的提升作用^[8]。然而,现今我国紫花苜蓿的种植地常为盐碱荒漠地,盐胁迫成为影响其生长发育和营养品质的主要因素^[9]。研究表明,当NaCl浓度达到50~200 mmol/L时,紫花苜蓿种子的萌发和幼苗的生长会受到严重抑制^[10],最终导致幼苗生长缓慢甚至死亡。因此,如何

收稿日期:2023-04-16;修回日期:2023-04-24

基金项目:国家自然科学基金(32060396);兰州市人才创新创业项目(2019-RC-116);甘肃农业大学青年导师基金项目(GAU-QDFC-2019-08);甘肃省杰出青年基金(20JR10RA562)

作者简介:陈海雁(1998-),女,甘肃省白银市人,硕士研究生。E-mail:3074225439@qq.com

*通信作者。E-mail:zhangzf@gsau.edu.cn

提高紫花苜蓿的耐盐性以减少它在盐渍化环境中的产量损失,已经成为当前畜牧业发展面临的重要问题。

目前微生物多糖已被国内外学者广泛用于缓解植物对逆境的抗性研究中。Upadhyay等^[11]研究发现,胞外多糖保护膜具有很强的保水能力,不仅能保持植物根部周围较高的水势,还能帮助植物吸收养分,防止植物脱水,从而保证植物在盐胁迫下的生长和生存。Alami等^[12]和Qurashi等^[13]还表明胞外多糖可以减少盐胁迫下作物对Na⁺的吸收,降低Na⁺对作物的毒害效应,并认为这与胞外多糖聚阴离子属性并能够结合阳离子的特性有关。更重要的是,与动植物多糖相比,微生物多糖培养周期较短、成本较低、产量较大、过程可控并且易于分离^[14]。因此,微生物多糖是一种潜在的提高植物耐盐性的营养添加剂。而黄原胶是当前世界上生产规模最大的微生物多糖^[15],主要是以野油菜黄单胞菌(*Xanthomonas campestris*)为菌种经发酵工程生产的一种微生物胞外多糖^[16]。研究表明黄原胶在植物的生长调节中能够起到植物的启动子、诱导子或刺激物的作用来促进植物的萌发生长^[17]。付为等^[17]还发现黄原胶可显著增加大麦幼苗的株高和平均鲜重,显著提升了大麦幼苗的麦绿素品质。

虽然黄原胶用途极广,但目前多用于食品及工业领域,在农业领域的研究较少,尤其是有关其调节紫花苜蓿抗盐性的研究报道较少。因此,本研究以紫花苜蓿为试验材料,探讨黄原胶对盐胁迫下紫花苜蓿种子萌发和幼苗生长的影响,为紫花苜蓿在盐碱地的生长、产量和品质提供一定的理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试苜蓿品种为紫花苜蓿品种敖汉(*Medicago sativa* cv. Aohan),现储存于甘肃农业大学牧草种质资源实验室;供试黄原胶购于梅花生物科技集团股份有限公司。

1.2 试验设计

挑选籽粒健康饱满、大小基本一致的苜蓿种子2500粒,于质量浓度为75%的酒精中浸泡1 min后转

入1%次氯酸钠(NaClO)溶液中浸泡5 min,无菌水反复冲洗4~5次,备用。

首先进行NaCl浓度筛选试验,向生长瓶^[18]中加入200 mL不同浓度(0、75、100、150和200 mmol/L)的NaCl溶液,高温高压灭菌(121 °C, 0.11 MPa)21 min。待冷却后于超净工作台中将紫花苜蓿种子等距放置在生长瓶中,每个处理8组重复,每个重复25粒种子。播种后将生长瓶放置于20 °C恒温,光强400~500 μmol/(m²·s),光周期为12 h/12 h的光照培养室中进行培养。于种子发芽第4天计算发芽势,第10天计算发芽率,每24 h记录种子发芽情况,参照张世敏等^[19]的方法以胚根突破种皮,伸出1 mm为发芽标准。

根据前期试验筛选出抑制效果较明显且不致死的NaCl浓度作为盐胁迫处理,共设置7个黄原胶的不同浓度处理(表1)。将制备好的各处理液加入到生长瓶中,每瓶200 mL,后续操作同上述盐浓度筛选试验。于种子发芽第4天计算发芽势,第10天计算发芽率和发芽指数,于幼苗生长第14天测定其根长、苗长、鲜重、干重和根系形态指标等。

表1 黄原胶的浓度处理

Table 1 Treatment concentrations of xanthan

| 处理 | 黄原胶/(g·L ⁻¹) |
|-----|--|
| CK1 | 蒸馏水 |
| CK2 | 75 mmol·L ⁻¹ NaCl |
| T1 | 75 mmol·L ⁻¹ NaCl+0.5 g·L ⁻¹ 黄原胶 |
| T2 | 75 mmol·L ⁻¹ NaCl+1.0 g·L ⁻¹ 黄原胶 |
| T3 | 75 mmol·L ⁻¹ NaCl+1.5 g·L ⁻¹ 黄原胶 |
| T4 | 75 mmol·L ⁻¹ NaCl+2.0 g·L ⁻¹ 黄原胶 |
| T5 | 75 mmol·L ⁻¹ NaCl+2.5 g·L ⁻¹ 黄原胶 |

1.3 相关指标测定

1.3.1 萌发指标测定 发芽势 GP=萌发第4天时的发芽种子数/供试种子数×100%;

发芽率 GR=萌发第10天时的发芽种子数/供试种子数×100%;

发芽指数 GI=∑(Gt/Dt)

式中:Gt为第t天的发芽种子数;Dt为相应发芽天数。

1.3.2 生长指标测定 苗长和根长:培养14 d后,从

各生长瓶中随机选取幼苗 4 株,用直尺测量,每个处理 4 组重复,即每个处理 12 株幼苗。

鲜重和干重:从各生长瓶中随机选取幼苗 10 株,用分析天平称取其鲜重,然后在 80 °C 烘箱中烘干至恒重后称取其干重,每个处理 3 组重复。

根系形态指标:从各处理中随机选取幼苗 12 株,保留根系通过根系扫描仪(Epson Expression)获取图像,后用 Win-RHIZO 根系分析软件(Regent Instruments Canada Inc)进行分析。

1.3.3 叶片相对含水量、相对电导率和叶绿素含量的测定 采用饱和称重法^[20]测定叶片相对含水量;用电导仪法^[21]测定叶片相对电导率;用 95% 乙醇浸提法^[22]测定叶绿素含量。

1.4 耐盐性综合评价

利用主成分分析将黄原胶处理的盐胁迫下紫花苜蓿种子萌发和幼苗生长的 13 个指标进行降维后,用隶属函数法^[6,23]进行黄原胶处理下紫花苜蓿耐盐性的综合评价。

1.4.1 各处理综合指标隶属函数值:

$$\mu(X_j) = (X_j - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min}) \quad j=1, 2, 3, \dots, n \quad (1)$$

X_j 表示第 j 个综合指标; X_{\min} 表示第 j 个综合指标最小值; X_{\max} 表示第 j 个综合指标最大值。

1.4.2 各处理综合指标权重:

$$W_j = P_j / \sum_{j=1}^n P_j \quad j=1, 2, 3, \dots, n \quad (2)$$

式中: w_j 表示第 j 个综合指标在所有综合指标中重要程度即权重; P_j 为第 j 个综合指标贡献率。

1.4.3 各处理耐盐性综合评价:

$$D = \sum_{j=1}^n [\mu(X_j) \times W_j] \quad j=1, 2, 3, \dots, n \quad (3)$$

D 值为各处理的耐盐性综合评价。

1.5 数据分析

用 Microsoft Excel 2019 和 SPSS 26.0 软件对数据进行整理分析并作图,使用 Duncan 法对差异显著性进行多重比较($P < 0.05$),各指标数据均为 3 个重复的“平均值 ± 标准误”表示。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的 NaCl 处理对紫花苜蓿种子萌发的影响

随着 NaCl 浓度升高,紫花苜蓿种子的发芽势和发芽率均呈现逐渐下降的趋势(图 1-C, 图 1-D)。与对照相比,75~200 mmol/L NaCl 均显著抑制了种子的发芽势和发芽率($P < 0.05$)。并且结合图 1-A 和图 1-B 可知,75 mmol/L NaCl 处理下种子的发芽虽受抑制,但种苗的成活率相对较高;100 mmol/L NaCl 处理下种子的发芽率虽然达到了对照的 50%,但种苗的存活率极低;而 150 和 200 mmol/L NaCl 处理下种子基本不萌发,虽有个别种子萌发,但随着胁迫时间增长,种子基本腐烂。因此,本试验采用 75 mmol/L NaCl 溶液作为盐胁迫处理。

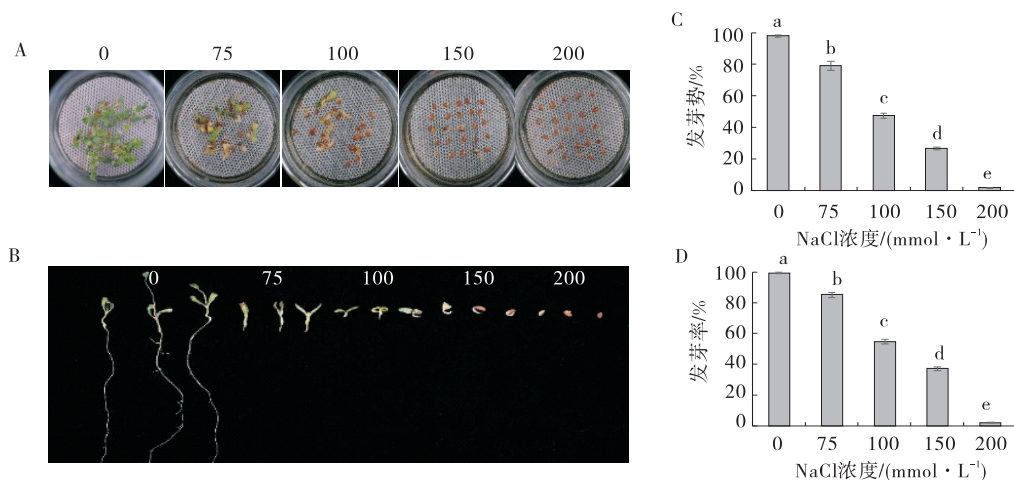


图 1 不同浓度盐胁迫对紫花苜蓿种子萌发的影响

Fig. 1 Effects of different concentrations of salt stress on seed germination of alfalfa

注:A 和 B 均表示不同盐胁迫下紫花苜蓿的表型生长,图中不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。下图同

2.2 不同浓度黄原胶对盐胁迫下紫花苜蓿种子萌发的影响

与CK1相比,CK2处理显著抑制了紫花苜蓿种子的萌发($P<0.05$)。与CK2相比,T1-T5处理随着黄原胶浓度的升高,种子的发芽率、发芽势和发芽指数均呈先增大后减小的趋势,其中,T3处理下种子的发芽势、发芽率和发芽指数均达到最大值,分别较CK2增加了22.78%、15.29%和29.68%($P<0.05$)。结果表明,75 mmol/L NaCl胁迫下,紫花苜蓿种子的发芽会受到抑制,而添加1.5~2.5 g/L黄原胶均可以缓解该盐胁迫下种子发芽势、发芽率和发芽指数的下降幅度(表2)。

2.3 不同浓度黄原胶对盐胁迫下紫花苜蓿苗长和根长的影响

与CK1相比,CK2处理显著抑制紫花苜蓿幼苗的生长($P<0.05$),其苗长和根长分别降低69.05%和91.19%。NaCl胁迫处理下,随着黄原胶浓度的增大,紫花苜蓿的苗长和根长均呈先上升后下降的趋势。与CK2相比,T1-T5处理紫花苜蓿的苗长显著增加($P<0.05$),分别增加了37.74%、42.79%、88.94%、

表2 不同浓度黄原胶处理下紫花苜蓿种子的萌发指标变化
Table 2 Changes of germination indexes of alfalfa seeds treated with different concentrations of xanthan

| 处理 | 发芽势/% | 发芽率/% | 发芽指数 |
|-----|---------------------------|--------------------------|-------------------------|
| CK1 | 98.00±0.76 ^a | 99.50±0.50 ^a | 68.22±0.40 ^a |
| CK2 | 79.00±1.64 ^d | 85.00±1.25 ^d | 50.17±1.10 ^c |
| T1 | 93.00±0.65 ^c | 93.50±0.73 ^c | 62.80±0.47 ^b |
| T2 | 95.50±1.18 ^{abc} | 97.50±0.73 ^{ab} | 64.45±0.92 ^b |
| T3 | 97.00±0.65 ^{ab} | 98.00±0.76 ^{ab} | 65.06±0.50 ^b |
| T4 | 94.50±1.05 ^{bc} | 97.00±1.00 ^{ab} | 64.35±1.21 ^b |
| T5 | 95.50±0.91 ^{abc} | 96.50±0.91 ^b | 64.39±0.61 ^b |

注:表中同列不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下表同

65.14%和44.23%,且在T3处理下达到最大值2.18 cm,其次是T4处理,苗长为1.91 cm(图2-A);T1-T5处理下根长也显著增加($P<0.05$),分别增加259.59%、362.05%、364.06%、260.95%和286.40%,且在T3处理下达到最大值5.78 cm,其次是T2处理,根长为5.75 cm(图2-B)。

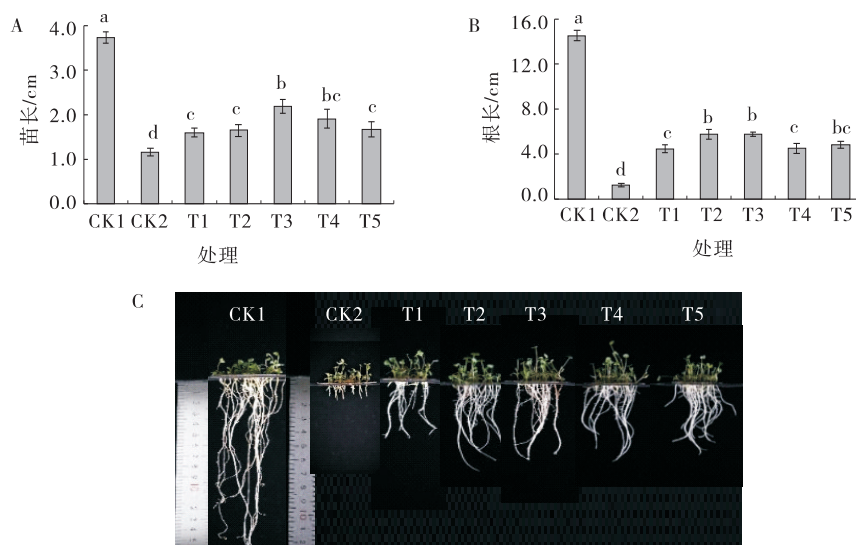


图2 不同浓度黄原胶处理下紫花苜蓿的苗长和根长变化

Fig. 2 Changes of seedling length and root length of alfalfa treated with different concentrations of xanthan

2.4 不同浓度黄原胶对盐胁迫下紫花苜蓿鲜重和干重的影响

与CK1相比,CK2显著降低了紫花苜蓿幼苗的鲜重和干重($P<0.05$),其苗鲜重(图3-A)、根鲜重(图3-B)、苗干重(图3-C)和根干重(图3-D)分别降低了66.30%、70.78%、69.67%和71.76%。添加不同浓

度黄原胶均可显著提高盐胁迫下紫花苜蓿的苗鲜重、根鲜重、苗干重和根干重($P<0.05$),且随着黄原胶浓度的增大,根干重受到抑制。与CK2相比,T3处理下紫花苜蓿的苗鲜重、苗干重、根鲜重和根干重均最大,分别较CK2增加了205.61%、200.64%、210.24%和198.82%,T2、T4、T5处理时紫花苜蓿的苗鲜重、苗干

重、根鲜重和根干重虽较 CK2 显著增加 ($P < 0.05$), 但各处理间差异不显著 (图 3)。

2.5 不同浓度黄原胶对盐胁迫下紫花苜蓿根系形态的影响

与 CK1 相比, CK2 显著降低了紫花苜蓿的总根表面积、总根体积和根尖数 ($P < 0.05$), 分别减小了 82.34%、35.48% 和 74.57%, 平均根直径较 CK1 增大

了 229.41%。NaCl 胁迫处理下, 随着黄原胶浓度的增大, 紫花苜蓿的总根表面积、总根体积和根尖数均呈先增后减的趋势, 平均根直径呈先减后增的趋势。与 CK2 相比, T3 处理下紫花苜蓿平均根直径最小, 较 CK2 降低了 47.37%; 且 T3 处理下总根表面积、总根体积和根尖数均达到最大值, 分别较 CK2 增加了 349.15%、85.00% 和 282.02% (表 3)。

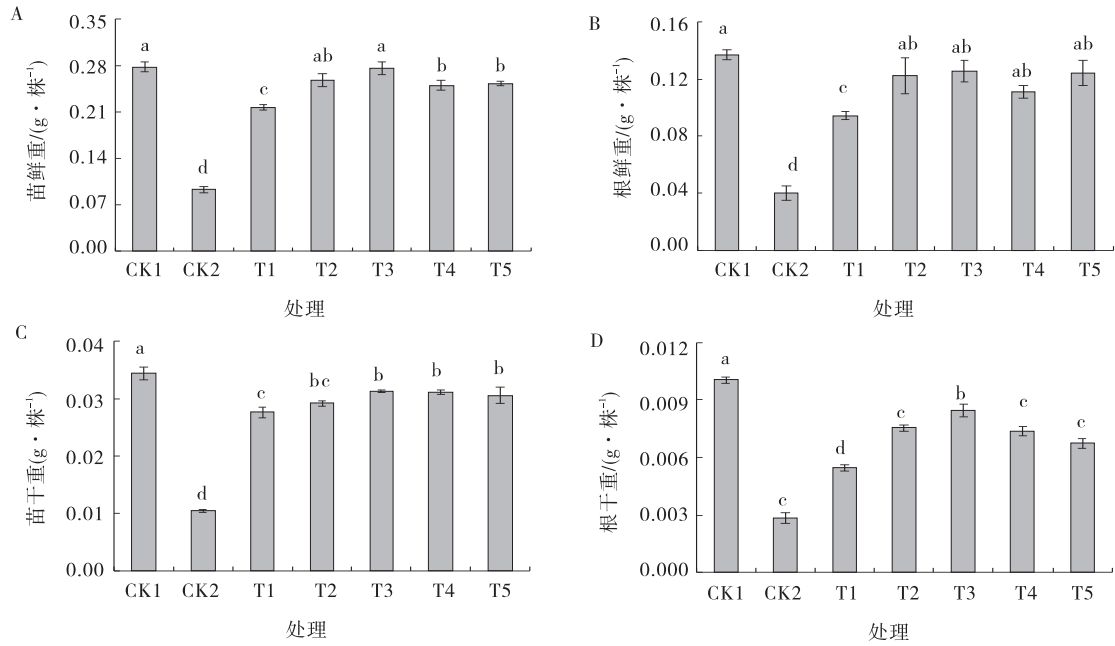


图 3 不同浓度黄原胶处理下紫花苜蓿的鲜重和干重

Fig. 3 Changes of fresh weight and dry weight of alfalfa treated with different concentrations of xanthan

表 3 不同浓度黄原胶处理下紫花苜蓿的平均根直径、总根表面积、总根体积和根尖数

Table 3 Average root diameter, total root surface area, total root volume and tips number of alfalfa treated with different concentrations of xanthan

| 处理 | 平均根直径/mm | 总根表面积/cm ² | 总根体积/cm ³ | 根尖数 |
|-----|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| CK1 | 0.323 ± 0.009 ^e | 3.329 ± 0.162 ^a | 0.031 ± 0.001 ^{ab} | 10.50 ± 1.55 ^a |
| CK2 | 1.064 ± 0.026 ^a | 0.588 ± 0.032 ^e | 0.020 ± 0.002 ^c | 2.67 ± 0.33 ^c |
| T1 | 0.720 ± 0.016 ^b | 1.388 ± 0.099 ^d | 0.025 ± 0.002 ^{bc} | 7.80 ± 0.86 ^{ab} |
| T2 | 0.668 ± 0.020 ^{bc} | 1.888 ± 0.046 ^c | 0.024 ± 0.003 ^c | 6.20 ± 1.69 ^{bc} |
| T3 | 0.560 ± 0.028 ^d | 2.641 ± 0.178 ^b | 0.037 ± 0.003 ^a | 10.20 ± 0.92 ^{ab} |
| T4 | 0.588 ± 0.038 ^{cd} | 2.522 ± 0.164 ^b | 0.036 ± 0.001 ^a | 9.80 ± 1.66 ^{ab} |
| T5 | 0.588 ± 0.043 ^{cd} | 2.392 ± 0.141 ^b | 0.035 ± 0.002 ^a | 10.00 ± 0.45 ^{ab} |

2.6 不同浓度黄原胶对盐胁迫下紫花苜蓿叶片相对含水量和相对电导率的影响

与 CK1 相比, CK2 处理导致紫花苜蓿叶片的相对含水量显著降低 ($P < 0.05$), 降低了 33.92%。与 CK2 相比, T1—T5 处理紫花苜蓿叶片的相对含水量均显

著升高 ($P < 0.05$), 其中 T2 处理下紫花苜蓿叶片的相对含水量最高, 较 CK2 增大了 39.79%, 其次是 T3 处理, 与 T2 处理差异不显著 (图 4-A)。与 CK1 相比, CK2 处理导致紫花苜蓿叶片的相对电导率显著升高 ($P < 0.05$), 是 CK1 的 2.78 倍。与 CK2 相比, T1—T5

处理紫花苜蓿叶片的相对电导率分别降低了48.78%、63.92%、66.24%、54.47%和63.38%，其中

T3处理下紫花苜蓿叶片相对电导率最低，其次是T2处理，且均达到了CK1的水平(图4-B)。

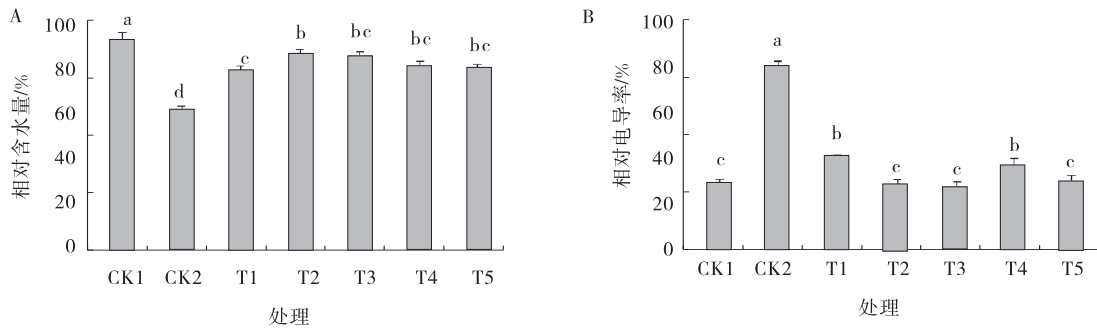


图4 不同浓度黄原胶处理下紫花苜蓿叶片的相对含水量和相对电导率

Fig. 4 Relative water content and relative electrical conductivity of alfalfa leaves treated with different concentrations of xanthan

2.7 不同浓度黄原胶对盐胁迫下紫花苜蓿叶片叶绿素含量的影响

与CK1相比,CK2使紫花苜蓿叶片叶绿素a(图5-A)、叶绿素b(图5-B)和总叶绿素含量(图5-C)显著降低 ($P < 0.05$), 分别降低了57.92%、65.99%和61.72%。与CK2相比,T1-T5处理均能不同程度地缓解盐胁迫对紫花苜蓿幼苗叶绿素含量的抑制 ($P <$

0.05), 其中叶绿素a含量分别增加了100.00%、130.10%、131.20%、128.00%和112.90%;叶绿素b含量分别增加了144.78%、173.13%、191.04%、177.61%和168.66%;总叶绿素含量分别增加了118.13%、148.13%、156.25%、149.38%和136.25%。并且以T3处理效果最佳,其次是T2和T4处理,均达到了CK1的水平。

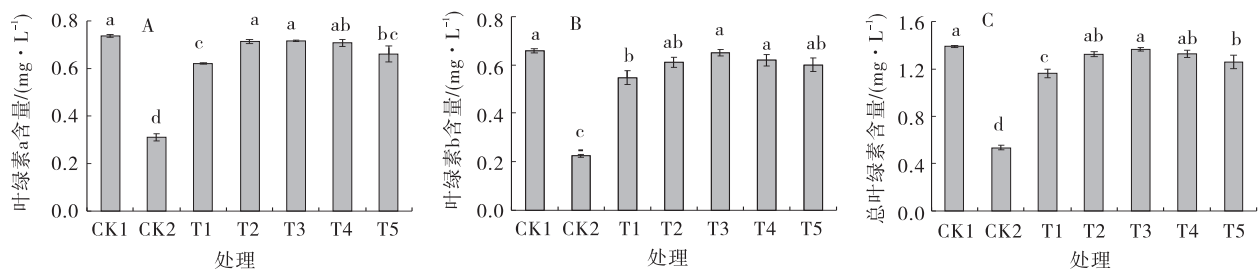


图5 不同浓度黄原胶处理下紫花苜蓿的叶绿素含量

Fig. 5 Chlorophyll content of alfalfa treated with different concentrations of xanthan

2.8 综合评价

采用主成分分析法,将NaCl胁迫下紫花苜蓿种子萌发及幼苗生长共13个指标分为了2个主成分(表4)。其中第1主成分特征值为10.987,贡献率为84.518%,第2主成分特征值为1.734,贡献率为10.565%,二者累计贡献率达到了95.084%。

利用隶属函数分析法综合评价各处理的耐盐性。结果显示,添加不同浓度的黄原胶均能在不同程度上缓解紫花苜蓿受到的盐胁迫。T3处理对NaCl胁迫下紫花苜蓿种子萌发和幼苗生长的缓解效果最佳。综合评价结果为:CK1>T3>T2>T4>T5>T1>CK2(表5)。

3 讨论

盐胁迫被认为是限制植物生存、生长发育和生产力的不利环境因素之一^[24]。本试验中,75 mmol/L NaCl胁迫显著抑制了紫花苜蓿的萌发与生长,原因可能是:1) 75 mmol/L NaCl胁迫使紫花苜蓿的细胞膜受损,影响了胞内离子交换,从而影响紫花苜蓿的萌发与生长^[6];2) 低盐浓度诱导种子休眠使得发芽率降低,进而影响幼苗生长^[25]。研究表明,糖作为一种类似于植物激素的信号分子,不仅能够调节植物的营养传输,还对胚轴、子叶和芽的发育具有重要作用^[26],同时还可被植物用于抵抗逆境伤害^[27]。黄荣等^[28]研究发现,成团泛菌(*Pantoea agglomerans*) CQ10脂多糖

表 4 各综合指标系数及贡献率

Table 4 Coefficient and contribution rate of each comprehensive index

| 指标 | 主成分 1 | 主成分 2 |
|---------|--------|--------|
| GP | 0.089 | -0.109 |
| GR | 0.090 | -0.073 |
| GI | 0.090 | -0.043 |
| RL | 0.071 | 0.451 |
| SL | 0.068 | 0.447 |
| FW | 0.089 | -0.107 |
| DW | 0.091 | -0.049 |
| ARD | -0.089 | -0.108 |
| RSA | 0.051 | -0.471 |
| RV | 0.086 | 0.063 |
| RWC | 0.089 | 0.084 |
| REC | -0.086 | 0.170 |
| ChIT | 0.088 | -0.136 |
| 特征值 | 10.987 | 1.734 |
| 贡献率/% | 84.518 | 10.565 |
| 累计贡献率/% | 84.518 | 95.084 |

注:GP 表示发芽势;GR 表示发芽率;GI 表示发芽指数;RL 表示根长;SL 表示苗长;FW 表示总鲜重;DW 表示总干重;ARD 表示平均根直径;RSA 表示根表面积;RV 表示根体积;RWC 表示相对含水量;REC 表示相对电导率;ChIT 总叶绿素含量

表 5 各处理综合指标值、权重、隶属函数值、D 值及综合评价

Table 5 The comprehensive indicator values, index weight, membership function value, D values and comprehensive evaluation of each treatment

| 处理 | 主成分 1 | 主成分 2 | $\mu(X1)$ | $\mu(X2)$ | D 值 | 综合评价 |
|-----|--------|--------|-----------|-----------|-------|------|
| CK1 | 1.111 | 1.911 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1 |
| CK2 | -2.053 | 0.635 | 0.000 | 0.542 | 0.061 | 7 |
| T1 | -0.299 | -0.070 | 0.554 | 0.289 | 0.525 | 6 |
| T2 | 0.180 | -0.076 | 0.706 | 0.287 | 0.659 | 3 |
| T3 | 0.541 | -0.720 | 0.820 | 0.056 | 0.734 | 2 |
| T4 | 0.268 | -0.805 | 0.734 | 0.025 | 0.654 | 4 |
| T5 | 0.251 | -0.876 | 0.728 | 0.000 | 0.647 | 5 |
| 权重 | | | 0.888 | 0.112 | | |

在 0.267 EU/mL 时会促进紫花苜蓿种子的萌发和幼苗的生长。Sandhya 等^[29]发现添加恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*)GAP-P45 胞外多糖,可降低干

旱胁迫对向日葵 (*Helianthus annuus*) 幼苗的影响。同时也有报道指出,胞外多糖不仅被用作种子激发剂,促进种子萌发^[30],还能够限制 Na^+ 的流动,减少植物对 Na^+ 的吸收,从而缓解盐胁迫对作物的伤害^[31]。本研究结果表明,添加 0.5~2.5 g/L 黄原胶均可缓解盐胁迫对紫花苜蓿种子萌发的影响,还能促进盐胁迫下紫花苜蓿幼苗的根长、苗长、鲜重和干重,张文平^[32]和 Sun^[33]在水稻 (*Oryza sativa*) 上也有类似的研究结果。说明黄原胶能缓解盐胁迫对紫花苜蓿生长的抑制,提高紫花苜蓿幼苗抵御盐害的能力。

众所周知,根系是植物营养物质吸收、传送的器官,其生长状况直接影响植物地上部分的生长发育^[34]。而盐分主要通过干扰根系的生长特性来限制植物生长,根系生物量的提高很可能有助于维持旺盛的枝条生长^[35]。有研究表明 EPS 在植物生长中除了能直接改善根系形态外,还形成生物膜作为物理屏障帮助植物抵御恶劣的环境压力^[36]。在本研究中,根的生长受到盐胁迫的显著限制,然而,用黄原胶处理的幼苗根系发育得到显著改善,其总根长、根体积、根表面积和根尖数均显著升高。本研究还发现盐胁迫对根系形态的影响比对地上部生长的影响更大,其原因可能是根系是最先感知到胁迫信号并产生相应生理反应的组织,从而影响了新梢的生长^[37]。

叶片相对含水量和相对电导率是评价氧化应激程度的一个重要指标,能够鲜明的反映出植物叶片细胞膜的损伤程度^[38]。当植物处于盐胁迫环境时,盐溶液进入植物体内会使植物细胞膜的相对透性发生变化^[39],导致叶片相对含水量降低,相对电导率升高。本试验发现,75 mmol/L NaCl 胁迫条件下,紫花苜蓿叶片相对含水量显著降低,相对电导率显著升高,而在添加 0.5~2.5 g/L 黄原胶后,幼苗则显示出较高水平的相对含水量和较低水平的相对电导率,与尹雅洁等^[40]在水稻上的研究结果类似。说明添加适宜浓度的黄原胶能够维持盐胁迫下紫花苜蓿幼苗叶片细胞膜相对透性,并且能在一定程度上减轻盐胁迫导致的电解质失衡。

叶绿素是植物进行光合作用的主要物质,它与植物的生长健康直接相关^[41]。盐胁迫环境下叶绿体结构被破坏,使得叶绿素含量降低,从而影响植物生

长^[42]。本研究发现,在75 mmol/L NaCl胁迫下,紫花苜蓿幼苗的叶绿素含量受到严重影响,而经过黄原胶处理后,紫花苜蓿叶片的叶绿素含量显著升高,表明黄原胶对盐胁迫下紫花苜蓿幼苗叶片叶绿素的降解具有一定的保护作用。这一结果与张成冉^[43]在玉米(*Zea mays*)幼苗中的研究结果一致。因此,黄原胶作为一种细菌多糖,能够有效地提高植物的光合能力。

综上所述,在盐胁迫条件下,黄原胶可以通过促进种子萌发,增加幼苗的株高、根长、含水量以及叶绿素含量等来调节紫花苜蓿的生长状况,并通过降低叶片相对电导率进而降低膜脂过氧化水平,从而增强苜蓿的耐盐性。

4 结论

75 mmol/L NaCl胁迫严重抑制了紫花苜蓿的萌发与生长,添加0.5~2.5 g/L黄原胶均能在一定程度上缓解该胁迫对紫花苜蓿的毒害作用,促进紫花苜蓿的种子萌发和幼苗生长。并且,经隶属函数综合分析后显示,1.5 g/L黄原胶对该盐胁迫浓度下紫花苜蓿的缓解效果最好。

参考文献:

- [1] 朱建峰,杨秀艳,武海雯,等. 植物种子萌发期耐盐碱性提高技术研究进展[J]. 生物技术通报, 2020, 36(2): 158-168.
- [2] Wang X S, Han J G. Effects of NaCl and Silicon on Ion Distribution in the Roots, Shoots and Leaves of two Alfalfa Cultivars with Different Salt Tolerance[J]. Soil Science & Plant Nutrition, 2007, 53(3): 278-285.
- [3] 李春杰,郎鸣晓,陈振江,等. *Epichloë*内生真菌对禾草种子萌发影响研究进展[J]. 草业学报, 2022, 31(3): 192-206.
- [4] Shu K, Qi Y, Chen F, et al. Salt Stress Represses Soybean Seed Germination by Negatively Regulating GA Biosynthesis while Positively Mediating ABA Biosynthesis [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8(10): 1372.
- [5] 刘奕嫩,于洋,方军. 盐碱胁迫及植物耐盐碱分子机制研究[J]. 土壤与作物, 2018, 7(2): 201-211.
- [6] 宋建超,杨航,景媛媛,等. 外源GABA对NaCl胁迫下垂穗披碱草种子萌发及幼苗生理特性的影响[J]. 草地学报, 2022, 30(2): 403-411.
- [7] 崔雪雯. 紫花苜蓿的耐盐性鉴定及褪黑素对盐胁迫的缓解效应[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2021.
- [8] 刘铎,白爽,杨庆山,等. 紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)耐盐碱研究进展[J]. 生物学杂志, 2021, 38(1): 98-101+105.
- [9] Song Y, Lv J, Ma Z, et al. The Mechanism of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Response to Abiotic Stress [J]. Plant Growth Regulation, 2019, 89(3): 239-249.
- [10] 熊雪. 紫花苜蓿在不均匀盐胁迫下的耐盐机制[D]. 南京:南京农业大学, 2019.
- [11] Upadhyay S K, Singh J S, Singh D P, et al. Exopolysaccharide-Producing Plant Growth-Promoting *Rhizobacteria* Under Salinity Condition [J]. Pedosphere, 2011, 21(2): 214-222.
- [12] Alami Y, Achouak W, Marol C, et al. Rhizosphere Soil Aggregation and Plant Growth Promotion of Sunflowers by an Exopolysaccharide-producing *Rhizobium* sp. Strain Isolated from Sunflower Roots [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(8): 3393-3398.
- [13] Qurashi A W, Sabri A N. Bacterial Exopolysaccharide and Biofilm Formation Stimulate Chickpea Growth and Soil Aggregation under Salt Stress [J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2012, 43(3): 1183-1191.
- [14] 罗晟,赵泽文,任新宇,等. 屎肠球菌胞外多糖对镉胁迫下水稻种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(9): 1888-1899.
- [15] 聂凌鸿,周如金,宁正祥. 黄原胶的特性、发展现状、生产及其应用[J]. 中国食品添加剂, 2003(3): 82-85.
- [16] 黄成栋,白雪芳,杜昱光. 黄原胶(Xanthan Gum)的特性、生产及应用[J]. 微生物学通报, 2005(2): 91-98.
- [17] 付为,肖俐,俞志敏,等. 黄原胶对大麦幼苗叶绿素合成及品质的影响[J]. 大连工业大学学报, 2022, 41(3): 157-160.
- [18] 姚博,张振粉,师尚礼,等. 一种植物种子发芽及幼苗胁迫实验装置:CN213368566U[P]. 2021-06-08.
- [19] 张士敏,赵娇阳,朱慧森,等. 硒对不同品种紫花苜蓿发芽阶段物质转化和形态建成的影响[J]. 草业学报, 2023, 32(4): 79-90.
- [20] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社, 2000: 163-165.
- [21] 邸锐,杨春燕. 干旱胁迫下极细链格孢激活蛋白对大豆幼苗形态、叶片含水量、细胞质膜相对透性和抗氧化酶的影响[J]. 华北农学报, 2016, 31(S1): 213-218.
- [22] 耿志卓,丁立人,逯亚玲,等. 外源水杨酸对不同水分胁迫

- 迫下分枝期紫花苜蓿生长和生理特性的影响[J]. 草地学报, 2016, 24(2): 369—376.
- [23] 王苗苗, 周向睿, 梁国玲, 等. 5份燕麦材料苗期耐盐性综合评价[J]. 草业学报, 2020, 29(8): 143—154.
- [24] Zhao S, Zhang Q, Liu M, *et al.* Regulation of Plant Responses to Salt Stress [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(9): 4609—4609.
- [25] Ehab A Ibrahim. Seed Priming to Alleviate Salinity Stress in Germinating Seeds [J]. Journal of Plant Physiology, 2016, 192: 38—46.
- [26] 赵莹, 杨克军, 李佐同, 等. 外源糖浸种缓解盐胁迫下玉米种子萌发 [J]. 应用生态学报, 2015, 26(9): 2735—2742.
- [27] 雷新慧, 万晨茜, 陶金才, 等. 褪黑素与2,4-表油菜素内酯浸种对盐胁迫下荞麦发芽与幼苗生长的促进效应 [J]. 作物学报, 2022, 48(5): 1210—1221.
- [28] 黄荣, 姚博, 张玉娟, 等. 成团泛菌CQ10脂多糖对紫花苜蓿种子萌发及苗期生长的影响 [J]. 草地学报, 2021, 29(5): 965—971.
- [29] Sandhya V, Ali S Z. The Production of Exopolysaccharide by *Pseudomonas putida* GAP-P45 under Various Abiotic Stress Conditions and Its Role in Soil Aggregation [J]. Microbiology, 2015, 84(4): 512—519.
- [30] Tewari S, Arora N K. Multifunctional Exopolysaccharides from *Pseudomonas aeruginosa* PF23 Involved in Plant Growth Stimulation, Biocontrol and Stress Amelioration in Sunflower Under Saline Conditions [J]. Current Microbiology, 2014, 69(4): 484—494.
- [31] Kasotia A, Varma A, Tuteja N, *et al.* Amelioration of Soybean Plant from Saline-Induced Condition by Exopolysaccharide Producing *Pseudomonas*-Mediated Expression of High Affinity K^+ -transporter (HKT1) Gene [J]. Current Science, 2016, 111(12): 1961—1967.
- [32] 张文平, 杨臻, 吴佩佳, 等. 乳酸菌胞外多糖对逆境胁迫下水稻种子萌发及幼苗生长的影响 [J]. 核农学报, 2019, 33(1): 138—147.
- [33] Sun Liang, Cheng Lifang, Ma Yuhang, *et al.* Exopolysaccharides from *Pantoea alhagi* NX-11 Specifically Improve Its Root Colonization and Rice Salt Resistance [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 209(PA): 396—404.
- [34] 张佳鹏, 高永, 党晓宏, 等. 紫穗槐幼苗根系形态对NaCl盐胁迫的响应 [J]. 水土保持通报, 2020, 40(2): 54—58+68.
- [35] Ferdosi M F H, Shoaib A., Habib S, *et al.* Modulation of Salt-induced Stress Impact in *Gladiolus grandiflorus* L. by Exogenous Application of Salicylic Acid [J]. Nature Publishing Group, 2021, 11(1): 15597.
- [36] Liu Xiaodong, Luo Yantao, Li Zhefei, *et al.* Role of Exopolysaccharide in Salt Stress Resistance and Cell Motility of *Mesorhizobium alhagi* CCNWXJ12-2T [J]. Applied microbiology and biotechnology, 2017, 101(7): 2967—2978.
- [37] Cramer G R, Läuchli A, Epstein E. Effects of NaCl and $CaCl_2$ on Ion Activities in Complex Nutrient Solutions and Root Growth of Cotton [J]. Plant Physiology, 1986, 81(3): 792—797.
- [38] 徐舒, 李玲, 张思梦, 等. 基于隶属函数分析的甘薯薯苗耐冷性基因型差异研究 [J]. 中国农业科学, 2019, 52(17): 2929—2938.
- [39] Niu M L, Huang Y L, Sun S T, *et al.* Root respiratory burst oxidase homologue-dependent H_2O_2 production confers salt tolerance on a grafted cucumber by controlling Na^+ exclusion and stomatal closure. Journal of Experimental Botany, 2018, 69(14): 3465—3476.
- [40] 尹雅洁, 张宗杰, 夏险, 等. 壳寡糖对水稻幼苗生长及抗逆性影响 [J]. 生物学杂志, 2021, 38(1): 77—80.
- [41] Keutgen A J, Pawelzik E. Contribution of Amino Acids to Strawberry Fruit Quality and their Relevance as Stress Indicators under NaCl Salinity [J]. Food Chemistry, 2008, 111(3): 642—647.
- [42] Alharby H F, Al-Zahrani H S, Khalid R H, *et al.* Identification of Physiological and Biochemical Markers for Salt (NaCl) Stress in the Seedlings of Mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] Genotypes [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2019, 26(5): 1053—1060.
- [43] 张成冉, 徐广海, 宋朝玉, 等. 糖浸种对盐胁迫玉米种子萌发和幼苗生长的影响 [J]. 种子, 2021, 40(8): 51—56.

Effects of xanthan on seed germination and seedling growth of alfalfa under salt stress

CHEN Hai-yan, ZHANG Zhen-fen*, JIN Zhen-hai, HE Lin-xin, TIAN Wang-jun,
ZHAO Liang

(College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory for Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Grassland Engineering Laboratory of Gansu Province, Sino-U. S. Centers for Grazing Land Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China)

Abstract: [Objective] Salt stress can reduce seed vitality, inhibit germination of seedlings, and seriously restrict the production of alfalfa in saline-alkali areas. Xanthan, a type of microbial polysaccharide, has been known to be effective in promoting plant growth. But its effects on salt—tolerance of alfalfa are unknown. In this study, the alleviating effect of different concentrations of xanthan to salt damage on the germination and seedling stages of alfalfa under salt stress has been investigated. [Method] The effects of xanthan (0.5, 1.0, 1.5, 2.0 and 2.5 g/L) on seed germination and seedling growth of alfalfa under 75 mmol/L NaCl stress were studied by hydroponic experiments using alfalfa 'Aohan' as experimental material. [Result] The germination rate, germination potential and germination index of alfalfa seeds were significantly inhibited by 75 mmol/L NaCl stress, The root length, seedling length, fresh weight and dry weight of seedlings, relative water content and chlorophyll content of leaves were also inhibited by the stress, while the relative electrical conductivity of leaves was significantly increased ($P < 0.05$). Another part of the results showed that the addition of 1.5, 2.0 and 2.5 g/L xanthan could significantly increase the germination potential, germination rate and germination index of alfalfa under the stress. Furthermore, under this stress, the addition of 0.5~2.5 g/L xanthan could significantly promote the growth of alfalfa seedlings and roots ($P < 0.05$), significantly increase the fresh weight, dry weight, relative water content and chlorophyll content of leaves ($P < 0.05$), and significantly decrease the relative electrical conductivity of leaves ($P < 0.05$). [Conclusion] Xanthan can significantly alleviate the toxicity of 75 mmol/L NaCl stress on alfalfa. According to the comprehensive evaluation of membership function, 1.5 g/L xanthan gum has the best effect on alfalfa under salt stress. This study provides a theoretical basis for the development and utilization of biogenic preparations for alfalfa cultivation in saline-alkali soil.

Key words: alfalfa; salt stress; xanthan; seed germination; seedling growth