

盐碱胁迫对油菜种子萌发和根尖细胞有丝分裂的影响

许耀照¹, 曾秀存^{1,2}, 方彦², 孙万仓²

(1. 河西学院, 甘肃 张掖 734000; 2. 甘肃农业大学 甘肃省油菜工程技术研究中心, 甘肃 兰州 730070)

摘 要: 以冬油菜品种“陇油 6 号”为材料, 通过中性盐 NaCl:Na₂SO₄ (9 mol:1 mol) 混合胁迫 (浓度为 40、80、120、160、200 mmol·L⁻¹ 和 240 mmol·L⁻¹, Na⁺ 浓度依次为 44、88、132、176、220 mmol·L⁻¹ 和 264 mmol·L⁻¹) 和碱性盐 NaHCO₃:Na₂CO₃ (9 mol:1 mol) 混合胁迫 (浓度为 10、20、30、40、50 mmol·L⁻¹ 和 60 mmol·L⁻¹, Na⁺ 浓度依次为 11、22、33、44、55 mmol·L⁻¹ 和 66 mmol·L⁻¹) 处理油菜种子和幼苗, 研究不同盐、碱胁迫下油菜种子萌发特性并观察根尖细胞有丝分裂的形态变化。结果表明: 对“陇油 6 号”种子萌发和幼苗生长无害的最大混合盐浓度为 160 mmol·L⁻¹ (pH = 6.67, Na⁺ = 176 mmol·L⁻¹), 最大混合碱浓度为 50 mmol·L⁻¹ (pH = 9.29, Na⁺ = 55 mmol·L⁻¹); 随着盐、碱胁迫浓度增大, “陇油 6 号”幼苗根尖细胞有丝分裂指数逐渐降低, 细胞微核率和染色体畸变率先上升后下降, 碱性盐溶液胁迫下降幅度明显大于中性盐溶液胁迫; 在同一盐、碱胁迫浓度时, 处理时间越长, 根尖细胞有丝分裂指数越低, 染色体畸变率和微核率越高。这表明盐、碱胁迫对“陇油 6 号”种子萌发和幼苗生长是两种不同的胁迫, 且碱性盐胁迫强于中性盐。

关键词: 油菜; 盐胁迫; 碱胁迫; 种子萌发; 根尖细胞; 有丝分裂
中图分类号: S565.4; Q945.34 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-7601(2014)04-0014-06

Effects of salt and alkali stress on seed germination and mitosis of root apical cells of *Brassica campestris* L.

XU Yao-zhao¹, ZENG Xiu-cun^{1,2}, FANG Yan², SUN Wan-cang²

(1. Hexi University, Zhangye, Gansu 734000, China;
2. Gansu Agricultural University / Gansu Engineering Research Center of Rapeseed, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Using Longyou 6 as test material, the characteristics of seed germination and morphological changes of mitosis of root apical cells of rapeseed (*Brassica campestris* L.) were studied under the stresses of neutral salt NaCl:Na₂SO₄ (9 mol:1 mol) (concentrations of NaCl:Na₂SO₄ were 40, 80, 120, 160, 200 mmol·L⁻¹ and 240 mmol·L⁻¹, and concentrations of Na⁺ were 44, 88, 132, 176, 220 mmol·L⁻¹ and 264 mmol·L⁻¹) and alkaline salt NaHCO₃:Na₂CO₃ (9 mol:1 mol) (concentrations of NaHCO₃:Na₂CO₃ were 10, 20, 30, 40, 50 mmol·L⁻¹ and 60 mmol·L⁻¹, and concentrations of Na⁺ were 11, 22, 33, 44, 55 mmol·L⁻¹ and 66 mmol·L⁻¹). The results showed that the maximum concentration of NaCl:Na₂SO₄ was 160 mmol·L⁻¹ (pH = 6.67, Na⁺ = 176 mmol·L⁻¹), and that of NaHCO₃:Na₂CO₃ was 50 mmol·L⁻¹ (pH = 9.29, Na⁺ = 55 mmol·L⁻¹) under which the seed germination and seedling growth of rapeseed were not affected negatively. With the increase of salt and alkali concentration, the mitotic index of root apical cells in rapeseed seedlings was gradually reduced; the cell micronucleus rate and chromosome aberration went up firstly and then came down; and the decrease rate under alkaline salt treatment was significantly greater than that under neutral salt treatment. Under the same concentration of salt and alkali stress, the longer the treatment time lasted, the lower was the mitotic index of root apical cells and the higher were the chromosome aberration rate and micronucleus rate. It could be concluded that salt and alkali stresses were different each other in affecting seed germination and seedling growth of rapeseed, and the effects of alkaline salt were stronger than those of neutral salt.

Keywords: rapeseed; salt-stress; alkali-stress; seed germination; root apical cell; mitosis

收稿日期: 2013-10-05
基金项目: 国家“863”高技术研究发展计划 (2011AA10A104); 国家公益性行业 (农业) 科研专项 (200903002 - 04); 现代农业产业技术体系建设专项 (CARS - 13); 河西学院校长科研基金项目计划 (XZ2011 - 02)
作者简介: 许耀照 (1975—), 男, 甘肃榆中人, 副教授, 硕士, 主要从事作物栽培研究。E-mail: xuyaozhao@126.com。
通信作者: 孙万仓, 博士, 教授, 主要从事油菜遗传育种研究。E-mail: wangcangsun@yahoo.com.cn。

土壤盐渍化已成影响农业生产和生态环境的一个世界性问题,但盐碱土是农业生产中具有潜在利用价值的重要土地资源^[1]。全世界盐碱地面积约为 9.55 亿 hm^2 ,占地球陆地面积的 7.26%,而我国盐碱土资源约为 9 913 万 hm^2 。大量的盐碱土壤的存在使农业生产蒙受巨大损失,对农业和陆地资源稳定性造成严重威胁^[2-3]。盐碱土中可溶性盐分主要包括 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 K^+ 等阳离子以及 CO_3^{2-} 、 HCO_3^- 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 和 NO_3^- 等阴离子^[4],它们均来自中性盐或碱性盐。通常将中性盐胁迫称为盐胁迫,而将碱性盐胁迫称为碱胁迫^[5]。由 NaHCO_3 、 Na_2CO_3 等碱性盐所造成的碱胁迫对植物的破坏作用明显大于由 NaCl 、 Na_2SO_4 等中性盐所造成的盐胁迫^[2]。目前已有不少研究证实土壤中含有 CO_3^{2-} 、 HCO_3^- 将会导致土壤 pH 值升高,植物受到盐和高 pH 值双重胁迫^[6-12]。我国北方盐碱地多属于既含中性盐又含碱性盐的复合盐碱地,盐化与碱化往往相伴发生。因此,合理利用、改良和开发盐碱土地资源,对农业生产具有重要意义。

油菜 (*Brassica campestris* L.) 是我国主要的油料作物,选育耐盐碱的油菜品种不仅可以扩大其种植面积,保证食用油的供给,还可不同程度地防治土地盐碱化、沙化,改善生态环境。近年来,有关盐胁迫对植物的影响在向日葵^[2]、小麦^[13]等植物上已有报道^[2,13],而在油菜的抗盐性上研究报道较少,特别是碱性盐对油菜种子萌发影响的研究报道较少。盐碱胁迫是一个非常复杂的过程,它会影响植物几乎所有的重要生命过程,如生长、光合作用、蛋白质合成、能量和脂类代谢等。种子萌发是植物生命起始的重要事件,也是植物最早接受盐碱胁迫的阶段^[14]。了解种子萌发对盐碱胁迫反应,是系统认识盐渍伤害机理的较好途径之一。本研究根据盐碱地所含盐分的特点模拟盐碱胁迫,探讨油菜种子早期萌发和油菜幼苗根尖细胞分裂对盐碱胁迫的响应,探讨盐碱胁迫下油菜种子萌发特性,以期为油菜耐盐碱资源筛选和种质资源评价提供理论参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

参试油菜品种为“陇油 6 号”,属于超强抗寒冬油菜品种,由甘肃农业大学作物遗传育种教研室提供。在油菜种子萌发期进行不同浓度的盐、碱胁迫处理。试验在甘肃省河西走廊特色资源利用重点实验室进行。

1.2 方法

1.2.1 盐胁迫浓度 将 NaCl 和 Na_2SO_4 按 9:1 摩尔比混合,设为 6 个盐浓度依次为 40、80、120、160、200 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 240 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, Na^+ 浓度依次为 44、88、132、176、220 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 264 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,6 个盐浓度依次用 S1、S2、S3、S4、S5 和 S6 代替。以 PHS-2C 精密 pH 计(酸度计)测定各盐浓度 pH 值,S1~S6 盐浓度 pH 值依次为 6.60、6.62、6.64、6.67、6.77 和 6.86。

1.2.2 碱胁迫浓度 将 NaHCO_3 和 Na_2CO_3 按 9:1 摩尔比混合,设为 6 个碱浓度依次为 10、20、30、40、50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, Na^+ 浓度依次为 11、22、33、44、55 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 66 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,6 个碱处理浓度依次用 A1、A2、A3、A4、A5、A6 代替。以 PHS-2C 精密 pH 计(酸度计)测定各碱溶液 pH 值,A1~A6 碱溶液 pH 值依次为 8.62、9.02、9.17、9.23、9.29 和 9.32。

1.2.3 盐碱胁迫处理及测定指标 种子萌发试验:随机选取饱满、大小一致的“陇油 6 号”油菜种子,用 0.1% 氯化汞消毒 10 min,蒸馏水冲洗 3 次后分别放入铺两层滤纸的培养皿(直径 90 mm,高 14.2 mm)中,分别加入不同盐、碱处理液 10 mL,蒸馏水处理为对照(CK),每个盐、碱处理油菜种子 30 粒,重复 3 次,然后将培养皿置于培养箱中,在 $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 无光条件培养 6 d,培养期间,每天定时用蒸馏水称重法补充培养皿水分以保持湿度;每天记录萌发种子数(以种子露白为萌发),连续统计 6 d 时,计算种子发芽率,发芽率 = 发芽种子数/供试种子数 $\times 100\%$;第 7 天用刻度直尺测量幼苗根长和苗长。

油菜根尖细胞培养:随机选取饱满、大小一致的“陇油 6 号”种子于培养皿中,加适量蒸馏水于 $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中催芽,待根长为 0.5~1 cm 时,选取根尖生长发育良好、根长较一致的油菜种子,分别转移到盐、碱处理液的培养皿中, $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 暗培养。以蒸馏水处理为对照(CK),每隔 24 h 从每一处理随机选取 10 个根尖,共取 2 次,剪取根尖,卡诺固定液(无水乙醇:冰乙酸 = 3V:1V)固定 24 h,蒸馏水浸洗 3 次后,将根尖转入 70% 的酒精,4℃ 冰箱保存,用于油菜根尖细胞有丝分裂指数、畸变率和微核率的统计和根尖常规压片,将压好的片子置于 DM-BA450 生物数码显微镜下观察,并用奥林帕斯 BH-10 对微核和发生染色体畸变的细胞进行显微摄影。

有丝分裂指数(MI%) = 分裂细胞数/观察细胞总数 $\times 100\%$;

染色体畸变率(AF%) = 染色体畸变数/观察细

胞总数 × 100 % ；

微核率 (FMN %) = 微核数 / 观察细胞总数 × 1000‰。

1.2.4 盐碱胁迫下种子吸水量 随机挑选均匀饱满的“陇油 6 号”种子各 50 粒,称干重,然后将其浸入相应的盐碱处理液中,每隔 2 h 将 50 粒种子取出,用滤纸吸去表面水分后称重(3 次重复),连续测量 12 h。以蒸馏水处理为对照(CK)。

1.3 数据处理

数据处理采用 SPSS13.0 软件进行方差分析,Microsoft Excel 2003 软件作图。

2 结果与分析

2.1 不同盐、碱胁迫下油菜种子的发芽率

作物种子能够在盐碱胁迫下萌发出苗,是其在盐碱条件下生长发育的前提。由图 1 可以看出,低浓度盐胁迫下(S1 ~ S4),延迟油菜种子萌发,但在种子萌发第 6 天时,低浓度盐胁迫下种子发芽率与 CK 比无明显差异;高浓度盐胁迫 S5 和 S6 处理不仅延迟种子萌发,而且明显降低油菜种子的发芽率,尤其在 S6 处理第 6 天,油菜种子发芽率仅为 CK 的 16.2%;由图 2 可看出,低浓度的碱胁迫下(A1 ~ A5),对油菜种子的发芽率无明显影响,但高浓度的碱胁迫(A6)明显降低油菜种子发芽率,在 A6 处理 6 天后,油菜种子发芽率为 CK 的 72.9%。由此可知,高浓度的盐碱胁迫(盐浓度 ≥ 160 mmol · L⁻¹,碱浓度 ≥ 50 mmol · L⁻¹)可抑制油菜种子的萌发,在明显抑制油菜种子萌发的盐碱胁迫中 Na⁺ 浓度存在差异,碱胁迫 A6 的 Na⁺ 浓度(66 mmol · L⁻¹)明显低于盐胁迫 S6 中 Na⁺ 浓度(264 mmol · L⁻¹)。

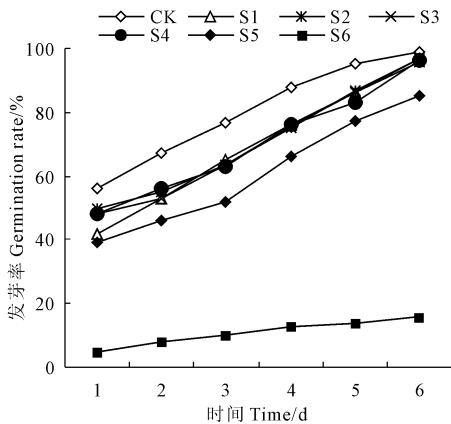


图 1 盐胁迫下种子的发芽率

Fig.1 The germination rate of rapeseed under the salt-stress

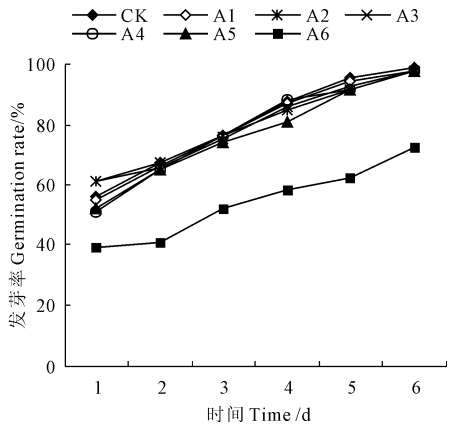


图 2 碱胁迫下种子的发芽率

Fig.2 The germination rate of rapeseed under the alkali-stress

2.2 不同盐、碱胁迫下油菜幼苗的根长和苗长

由表 1 可以看出,低浓度盐和碱(S1、A1)胁迫下,根长较 CK 分别增加了 14.5%、12.3%,达到显著差异($P < 0.05$),随着盐碱胁迫浓度的增加,根生长逐渐降低,在盐碱胁迫 S6 和 A6 处理下,根长分别为 CK 的 8.06% 和 4.83%,各盐碱胁迫浓度间达到显著差异($P < 0.05$),60 mmol · L⁻¹碱胁迫抑制油菜幼苗根长强于 240 mmol · L⁻¹盐胁迫,这表明低浓度碱性盐胁迫会抑制油菜幼苗根生长。不同浓度的盐碱(S1 ~ S6、A1 ~ A6)胁迫下,都明显抑制油菜苗生长,随着盐碱胁迫浓度的增加,油菜苗长明显降低,在盐碱胁迫 S6 和 A6 处理下,苗长分别为 CK 的 17.6% 和 4.4%,各盐碱胁迫浓度内达到显著差异($P < 0.05$),60 mmol · L⁻¹碱胁迫抑制油菜幼苗苗长强于 240 mmol · L⁻¹盐胁迫,这表明低浓度碱性盐胁迫会抑制油菜幼苗生长。说明碱胁迫对油菜幼苗生长的抑制作用明显大于盐胁迫。

2.3 不同盐、碱胁迫下油菜种子的吸水量

由表 2 可以看出,在盐碱胁迫下,随着油菜种子吸水时间(2 ~ 12 h)的增加,油菜种子的吸水量在逐渐增加,在盐碱胁迫 S1(40 mmol · L⁻¹)和 A4(40 mmol · L⁻¹)处理下,种子吸水时间 2 h 的吸水量分别是 12 h 吸水量的 71.6% 和 67.1%,这表明相同浓度盐碱胁迫下,碱胁迫抑制油菜种子的吸水能力强于盐胁迫。

在同一吸水时间内,随着盐碱胁迫强度的增加,盐胁迫处理油菜种子吸水量均高于对照;碱胁迫处理油菜种子吸水量部分高于对照,且盐胁迫处理吸水量高于碱胁迫。

表 1 不同盐、碱浓度胁迫下油菜幼苗的根长和苗长
Table 1 Shoot height and root length of *Brassica campestris* L. seedlings under different concentrations of salt and alkali stress

处理 Treatment	根长/cm Root length		苗长/cm Shoot height	
盐胁迫 Salt-stress	CK	6.2 ± 0.17b	6.8 ± 0.18a	
	S1	7.1 ± 0.15a	6.5 ± 0.26a	
	S2	6.0 ± 0.21b	5.4 ± 0.06b	
	S3	5.4 ± 0.12c	4.7 ± 0.23c	
	S4	5.2 ± 0.03c	4.4 ± 0.20c	
	S5	1.9 ± 0.17d	1.5 ± 0.23d	
碱胁迫 Alkali-stress	S6	0.5 ± 0.06e	1.2 ± 0.06e	
	CK	6.2 ± 0.17b	6.8 ± 0.18a	
	A1	6.9 ± 0.10a	3.2 ± 0.12b	
	A2	5.9 ± 0.23b	3.0 ± 0.10b	
	A3	4.7 ± 0.06c	2.6 ± 0.06c	
	A4	4.0 ± 0.11d	2.5 ± 0.12c	
	A5	3.8 ± 0.13d	2.1 ± 0.12d	
	A6	0.3 ± 0.20f	0.3 ± 0.20e	

注:同列同一处理不同小写字母表示差异达 0.05 显著水平,下同。
Note: Different lowercase letters in the same column and treatment indicate significant difference at 0.05 level. The same below.

2.4 不同盐、碱胁迫下油菜根尖细胞有丝分裂指数、染色体畸变率和微核率

由表 3 可以看出,盐碱胁迫对油菜根尖细胞有丝分裂指数具有显著的抑制作用($P < 0.05$),这种

抑制作用表现明显的剂量 – 时间效应,即处理浓度越高,时间越长,抑制作用程度越大。盐胁迫 24 h 时,S6 的有丝分裂指数较 CK 下降 79.6%,而 S1 较 CK 仅下降 28.1%,在盐胁迫 48 h 时,S6 和 S1 较 CK 分别下降 91.2%和 28.9%;在碱胁迫 24h 时,A6 和 A1 较 CK 分别下降 87.4%和 29.3%。在碱胁迫 48h 时,A6 和 A1 较 CK 分别下降 92.8%和 30.8%。由此可知,胁迫浓度越高,时间越长,细胞有丝分裂指数越低,而且碱胁迫对细胞有丝分裂的抑制程度大于盐胁迫。

盐碱胁迫对油菜根尖细胞畸变率和微核率具有显著的影响,随着盐碱处理浓度的增加,油菜根尖细胞染色体畸变率和微核率呈现先上升后下降的趋势,在盐碱胁迫 24 h 时,细胞染色体畸变率和微核率分别于 S4、S4 和 A4、A4 处理达到最大值,且明显高于对照和其它处理($P < 0.05$)(表 3)。在同一盐浓度(S4)胁迫下,随着盐处理时间由 24 h 增加到 48 h 后,染色体畸变率和微核率呈增加趋势,分别由 3.1%增加到 8.3%,6.6%增加到 6.7%。在同一碱浓度(A4)胁迫下,随着碱处理时间由 24 h 增加到 48 h 后,染色体畸变率和微核率呈下降趋势,分别由 3.1%下降到 2.3%,由 9.5%下降到 5.7%。

从图 3 镜检结果可以看到,盐碱胁迫能够引起油菜幼苗根尖细胞有丝分裂过程的多种异常,如微核(图 3a,3b)、双核(图 3c)、染色体桥(图 3d,3e)、染色体断片(图 3e)以及染色体加倍(图 3f)等现象。

表 2 不同盐、碱浓度胁迫下油菜种子的吸水量
Table 2 Water absorption of *Brassica campestris* L. seed under different concentrations of salt and alkali stress

处理 Treatment		不同时间吸水量 Water absorption in different period/(g·h ⁻¹)					
		2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h
盐胁迫 Salt-stress	CK	0.215 ± 0.003	0.246 ± 0.011	0.279 ± 0.018	0.307 ± 0.028	0.313 ± 0.019	0.348 ± 0.031
	S1	0.260 ± 0.005	0.281 ± 0.028	0.304 ± 0.028	0.327 ± 0.027	0.331 ± 0.036	0.363 ± 0.033
	S2	0.283 ± 0.017	0.300 ± 0.005	0.319 ± 0.024	0.333 ± 0.020	0.342 ± 0.017	0.369 ± 0.019
	S3	0.284 ± 0.013	0.297 ± 0.006	0.314 ± 0.008	0.328 ± 0.009	0.332 ± 0.015	0.357 ± 0.012
	S4	0.318 ± 0.058	0.326 ± 0.052	0.339 ± 0.045	0.352 ± 0.046	0.354 ± 0.047	0.375 ± 0.007
	S5	0.284 ± 0.024	0.310 ± 0.007	0.346 ± 0.035	0.378 ± 0.029	0.394 ± 0.025	0.413 ± 0.027
S6	0.288 ± 0.012	0.304 ± 0.010	0.344 ± 0.038	0.387 ± 0.011	0.398 ± 0.002	0.415 ± 0.049	
碱胁迫 Alkali-stress	CK	0.215 ± 0.003	0.246 ± 0.011	0.259 ± 0.018	0.307 ± 0.028	0.313 ± 0.019	0.348 ± 0.031
	A1	0.214 ± 0.012	0.243 ± 0.006	0.274 ± 0.004	0.302 ± 0.0310	0.306 ± 0.026	0.339 ± 0.025
	A2	0.253 ± 0.032	0.283 ± 0.025	0.315 ± 0.017	0.341 ± 0.002	0.346 ± 0.029	0.377 ± 0.026
	A3	0.205 ± 0.008	0.234 ± 0.036	0.267 ± 0.019	0.293 ± 0.021	0.297 ± 0.025	0.328 ± 0.025
	A4	0.232 ± 0.043	0.259 ± 0.039	0.286 ± 0.030	0.313 ± 0.023	0.317 ± 0.009	0.346 ± 0.007
	A5	0.221 ± 0.009	0.249 ± 0.008	0.277 ± 0.012	0.303 ± 0.011	0.308 ± 0.010	0.339 ± 0.040
	A6	0.216 ± 0.008	0.242 ± 0.012	0.271 ± 0.022	0.295 ± 0.025	0.299 ± 0.021	0.328 ± 0.017

表 3 不同盐、碱胁迫下油菜根尖细胞有丝分裂指数、畸变率和微核率
Table 3 Mitosis index, chromosomic aberration and micronucleus rate in root apical cells of *Brassica campestris* L. under different concentrations of salt and alkali stress

处理 Treatments		24 h			48 h		
		有丝分裂指数 /%	畸变率/%	微核率/%	有丝分裂指数 /%	畸变率/%	微核率/%
		Mitotic index	Aberration rate	Micronucleus rate	Mitotic index	Aberration rate	Micronucleus rate
盐胁迫 Salt-stress	CK	16.7 ± 1.02a	0.2 ± 0.01d	0.6 ± 0.09d	15.9 ± 1.12a	0.2 ± 0.01c	0.6 ± 0.02f
	S1	12.0 ± 0.73b	0.6 ± 0.05d	0.9 ± 0.15d	11.3 ± 0.73b	2.2 ± 0.81bc	1.9 ± 0.41e
	S2	9.4 ± 0.67c	1.2 ± 0.21bc	1.7 ± 0.06bcd	9.0 ± 0.25c	4.2 ± 0.47b	5.5 ± 0.42c
	S3	8.8 ± 0.44c	1.7 ± 0.16b	2.8 ± 0.03bc	8.4 ± 0.71c	8.9 ± 0.84a	9.3 ± 0.43a
	S4	7.4 ± 0.88c	3.1 ± 0.27a	6.6 ± 0.81a	6.1 ± 0.98d	8.3 ± 0.21a	6.7 ± 0.27b
	S5	3.8 ± 0.48d	1.2 ± 0.23bc	3.4 ± 0.34b	4.1 ± 0.83d	1.4 ± 0.31bc	3.2 ± 0.17d
	S6	3.4 ± 0.42e	0.71 ± 0.09cd	2.2 ± 0.41c	1.4 ± 0.10e	0.9 ± 0.33c	1.2 ± 0.18ef
碱胁迫 Alkali-stress	CK	16.7 ± 1.02a	0.2 ± 0.02e	0.6 ± 0.08d	15.9 ± 1.12a	0.2 ± 0.01c	0.6 ± 0.02e
	A1	11.8 ± 0.49b	0.8 ± 0.02d	1.2 ± 0.21cd	11.0 ± 0.35b	1.1 ± 0.15c	1.3 ± 0.25de
	A2	10.2 ± 0.39c	0.93 ± 0.13cd	4.4 ± 0.28b	9.2 ± 0.56c	2.2 ± 0.28b	2.1 ± 0.33bcd
	A3	8.7 ± 0.35bc	1.5 ± 0.14bc	8.5 ± 0.43a	7.2 ± 0.57d	4.4 ± 0.61a	9.02 ± 0.23a
	A4	5.9 ± 0.34d	3.1 ± 0.34a	9.5 ± 0.54a	5.1 ± 0.39e	2.3 ± 0.14b	5.7 ± 0.75b
	A5	4.7 ± 0.33e	1.6 ± 0.23b	3.9 ± 0.40b	2.2 ± 0.08f	1.1 ± 0.25 c	3.1 ± 0.36c
	A6	2.1 ± 0.39e	0.81 ± 0.07d	1.9 ± 0.38c	1.14 ± 0.20f	0.64 ± 0.04c	1.5 ± 0.14de

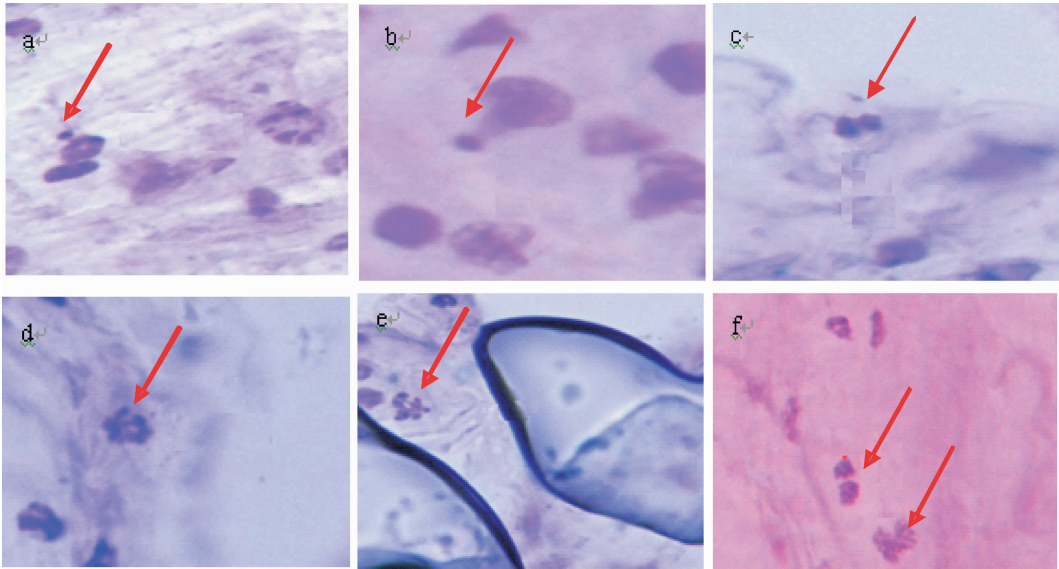


图 3 盐碱胁迫对油菜根尖细胞形态的影响(48 h)

Fig.3 Effect of salt and alkali stress on morphology of root apical cells of *Brassica campestris* L. (48 h)

注：a、b,微核；c,双核；d,染色体双桥；e,染色体桥及片断；f,多倍化细胞及分裂后期细胞。
Note: a and b, micronucleus; c, twinnucleus; d, chromosome twinbridge; e, chromosome bridge and fragment; f, polyploidization and anaphase cells.

3 讨 论

盐胁迫是影响作物生长发育的一个重要环境因子,研究作物的抗盐机理,寻找提高作物抗盐性的途径,对抗性育种和盐碱地的开发具有重要的意义。作物种子萌发是从吸水开始的^[2,15],种子从外界吸足水分后,贮存在干燥种子中的酶原被激活,种子萌

发所需的酶被合成,进而完成细胞分裂分化以及胚生长^[16-17]。盐胁迫普遍抑制种子萌发,低水势是其主要的限制因素。种子发芽速率取决于种子吸水速率。本试验中,低浓度的混合盐胁迫延迟种子萌发,低浓度的碱胁迫对油菜种子的萌发无明显影响;高浓度的盐碱胁迫均抑制种子的萌发,而且盐胁迫对油菜种子发芽率的抑制明显大于碱胁迫,其原因

是低浓度的盐溶液只是推迟了种子的萌发时间,并没有使之完全失去活力,而较高浓度盐胁迫 ($240\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)降低了种子的吸水量,致使细胞自由水含量较低,导致代谢缓慢,萌发延迟甚至被抑制。

低浓度盐、碱胁迫下,油菜幼苗以增加根长获取更多的水分,而随着胁迫强度的增加,根长呈下降趋势,但随着盐碱浓度增加,抑制苗长生长,且碱液胁迫抑制作用更明显。碱胁迫对幼苗生长抑制作用大于盐胁迫,与其作用机制有关。盐胁迫对植物的致害因素是渗透胁迫和离子毒害,而碱胁迫除了这些因素,还涉及高 pH 值胁迫^[18]。高 pH 值在植物不同生长发育阶段作用明显不同,在种子萌发阶段,高 pH 值作用不明显,但种子一旦萌发,就会成为限制幼苗生长和发育的关键因素。植物根系在高 pH 值环境下,不仅根系不能正常吸收矿质营养及氧气,同时还会直接破坏根细胞结构与功能,影响细胞正常分裂,甚至出现染色体畸变、微核等现象。

盐碱胁迫对油菜根尖细胞有丝分裂指数具有显著的抑制作用,这种抑制作用表现明显的剂量 - 时间效应,碱胁迫对细胞有丝分裂抑制程度大于盐胁迫,这与碱溶液高 pH 值有关。油菜根尖细胞的微核率和染色体畸变率在一定胁迫浓度范围内呈现先上升后下降的趋势,其原因是胁迫浓度过高会抑制或终止细胞正常的分裂活动,使那些不分裂细胞中的染色体畸变和微核不能表现而引起微核率和染色体畸变率下降^[19]。作物的抗盐性是作物在长期的生态适应过程中形成的结果,并随着生长发育进程与环境条件而变化,同一种作物不同生长期抗逆性存在很大的差异,对于油菜在不同生长期的抗盐碱性还需进一步研究。

参 考 文 献:

[1] 代莉慧,蔡 禄,吴金华,等.盐碱胁迫对盐生植物种子萌发的影响[J].干旱地区农业研究,2012,30(6):134-138.
[2] 刘 杰,张美丽,张 义,等.人工模拟盐、碱环境对向日葵种子萌发及幼苗生长的影响[J].作物学报,2008,34(10):1818-1825.
[3] 王 波,宋凤斌,张金才.植物耐盐性研究进展[J].农业系统科学与综合研究,2007,23(2):212-216.

[4] Tan ji K K. Agricultural Salinity Assessment and Management[M]. New York:American Society of Civil Engineers, 1990:1-112.
[5] 麻 莹,曲冰冰,郭立泉,等.盐碱混合胁迫下抗碱盐生植物碱地肤的生长及其茎叶中溶质积累特点[J].草业学报,2007,16(4):25-33.
[6] Brand J D, Tang C, Rathjen A J. Screening rough-seeded lupins (*Lupinus pilosus* Murr .and *Lupinus atlanticus* Glads.) for tolerance to calcareous soils[J]. Plant Soil, 2002,245:261-275.
[7] Nuttall G, Armstrong R D, Connor D J. Evaluating physico-chemical constraints of calcarosols on wheat yield in the Victo - rian southern Mallee[J]. Aust J Agric Res, 2003,4:487-497.
[8] 颜 宏,赵 伟,盛艳敏,等.碱胁迫对羊草和向日葵的影响[J].应用生态学报,2005,16(8):1497-1501.
[9] Shi D, Wang D. Effect of various salt - alkaline mixed stress conditions on *Aneurolepidium chinense* (Trin.) Kitag [J]. Plant Soil, 2005,271:15-26.
[10] Shi D, Sheng Y. Effect of various salt - alkaline mixed stress conditions on sunflower seedlings and analysis of their stress factors[J]. Environ Exp Bot, 2005,54:8-21.
[11] Yang C W, Chong J N, Li C Y, et al. Osmotic adjustment and ion balance traits of an alkali resistant halophyte *Kochia sieversiana* during adaptation to salt and alkali conditions[J]. Plant Soil, 2007, 294:263-276.
[12] 石德成,盛艳敏,赵可夫.复杂盐碱条件对向日葵胁迫作用主导因素的实验确定[J].作物学报,2002,28(4):461-467.
[13] 赵乃妮,培 强,任 珏.模拟盐碱胁迫对小麦种子萌发的影响[J].环境科学与管理,2008,33(11):42-46.
[14] 刘 斌,周 延,龚 伟,等.盐碱胁迫对不同苦瓜品种种子萌发的影响[J].安徽农业科学,2009,37(34):16806-16808.
[15] Thompson D I, Edwards T J, Van Staden J. A novel dual-phase culture medium promotes germination and seedling establishment from immature embryos in South African *Disa*(Orchidaceae) species[J]. Plant Growth Regul, 2007,53:163-171.
[16] 陈月艳,孙国荣,阎秀峰. Na_2CO_3 对星星草种子保护酶活性的影响[J].草地学报,2002,10(3):194-197.
[17] 孙国荣,陈月艳,关 咏,等.盐碱胁迫下星星草种子萌发过程中有机物、呼吸作用及其几种酶活性的变化[J].植物研究, 1999,19(4):445-451.
[18] Khan M A, Ungar I A, Showalter A M. Effects of salinity on growth, water relations and ion accumulation of the subtropical perennial halophyte, *Atriplex griffithii* var. *stocksii* [J]. Ann Bot, 2000, 85: 225-232.
[19] 曾秀存,许耀照.洗涤剂对豌豆根尖细胞的致畸效应[J].草业科学,2011,28(9):1685-1689.