

## 酸水浸泡下钙盐溶液浸种的白三叶‘海法’种子萌发特性初探

向仰州\*, 刘方

贵州大学资源与环境工程学院, 贵阳 550003

**提要:** 研究 5~25 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 溶液浸种的白三叶品种‘海法’种子萌发特性的结果表明, 酸水胁迫下经 CaCl<sub>2</sub> 溶液浸种过的白三叶种子的发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数以及幼苗鲜重和干重均增大, 且均随着溶液中 CaCl<sub>2</sub> 浓度的上升而增大, 白三叶种子浸种以 15~20 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 的效果为最佳。

**关键词:** CaCl<sub>2</sub>; 浸种; 酸水; 白三叶‘海法’; 种子萌发

## Preliminary Study on Germination Properties of *Trifolium repens* L. ‘Haifa’ Seeds Soaked in CaCl<sub>2</sub> Solution under Acid Water Stress

XIANG Yang-Zhou\*, LIU Fang

College of Resource and Environment Engineering, Guizhou University, Guiyang 550003, China

**Abstract:** The protective effect of CaCl<sub>2</sub> solution on germination of *Trifolium repens* ‘Haifa’ seeds under the acid water stress was studied. The results indicated that with the increasing of the CaCl<sub>2</sub> solution concentration, the values of germination energy, germination percentage, germination index and vigor index of *T. repens* seeds and the fresh and dry weights of seedlings under the acid water stress increased gradually, and the CaCl<sub>2</sub> concentrations ranged from 15 to 20 mmol·L<sup>-1</sup> were appropriate.

**Key words:** CaCl<sub>2</sub>; soaking seed; acid water; *Trifolium repens* ‘Haifa’; seed germination

随着酸雨污染的日益加剧, 酸雨对植物种子萌发的研究逐步深入。酸雨对种子萌发的影响机制主要是打破种子内部原有的酸碱平衡, 酶活性降低或失活, 从而制约物质与能量循环, 新细胞分裂和器官形成受阻(王丽红等 2008)。此外, 植物体内第二信使 Ca<sup>2+</sup> 既是细胞的机构物质, 又能调节植物对环境变化的适应能力(唐静等 2007)。廖柏寒和蒋青(2001)认为, Ca<sup>2+</sup> 对酸雨的酸度有一定的缓解作用, 可降低原有的酸度, 其缓冲能力随着溶液中 Ca<sup>2+</sup> 浓度的增加而增大。溶液中 Ca<sup>2+</sup> 渗入植物细胞质内部, 细胞质中游离 Ca<sup>2+</sup> 活度升高, 进而改变体内蛋白质激酶活性, 诱导相关基因的表达或调节 H<sup>+</sup>-ATP 酶的活性, 最终对维持细胞膜的膜结构起良好的防护效应, 并减少能量消耗(蒋廷惠等 2005)。关于钙盐降低酸雨对植物危害的研究主要以幼苗或植株为对象(邱栋梁等 2002; 周希琴 2005), 而以其溶液增强抗酸雨能力的报道较少。为此, 本文研究以酸水模拟的酸雨胁迫下 CaCl<sub>2</sub> 溶液浸种的白三叶种子萌发特性, 以供酸雨地区种植白三叶时参考。

### 材料与方法

白三叶(*Trifolium repens* L.)品种‘海法’种子

购自贵阳市克劳沃草业有限公司。

分别称取 0.1110、0.2222、0.3330、0.4444、0.5550 g 无水 CaCl<sub>2</sub>, 缓慢加入盛有 200 mL 去离子水的磨口玻璃瓶中, 摇匀后制得 5、10、15、20、25 mmol·L<sup>-1</sup> 的 CaCl<sub>2</sub> 溶液。另外选取籽粒饱满、粒径大小相近的白三叶种子, 用 0.5% 的 KMnO<sub>4</sub> 溶液消毒 30 min, 经去离子水漂洗 3 次后以吸水纸吸去表面水分, 采用培养皿滤纸法做种子萌发实验。种子放入预先标记且铺上 2 层滤纸的培养皿中, 每皿 50 粒, 种子间距尽量保持一致。用移液管量取 20 mL CaCl<sub>2</sub> 溶液加到相应编号的培养皿中, 以去离子水浸种作对照。浸种 12 h 后用去离子水漂洗种子 3 次, 吸水纸吸干种子表面的水分后做酸水胁迫发芽实验。

酸水配制参照文献(曾庆玲等 2004), 先用硫酸和硝酸制备 pH 1.0 的母液, 其中硫酸根和硝酸根的体积比为 4.7:1。以去离子水稀释母液调制成 pH 3.0 的酸水, 并经 ZD- 型自动电位滴定仪校准。酸水

收稿 2008-05-29 修定 2008-07-02

\* E-mail: yzhxiang18@126.com; Tel: 0851-4733406

胁迫下的种子萌发实验也采用培养皿滤纸法。按照相应编号将已浸泡过CaCl<sub>2</sub>溶液的白三叶种子加入预先标记且铺上2层滤纸的培养皿中,种子间距尽量保持一致。用移液管量取10 mL pH 3.0的酸水加入培养皿后移至GXZ型光照培养箱中,温度(25±0.5)℃,光照强度25.2 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>,光照时间12 h·d<sup>-1</sup>。为保持酸水的pH不变,每2 d换一次酸水。以后每天打开2次,与外界换气5 min,观察并记录种子的萌发和生长情况,第8天测定幼苗鲜重及干重(黄婷等2007)。发芽以突破种皮的胚轴长度达到种子自身的长度为标准,每天统计发芽的种子数(孟红梅等2007)。

实验指标有:(1)发芽势=发芽初期(规定日期内)正常发芽粒数/供试种子粒数×100%,以第3天发芽种子数计算;(2)发芽率=发芽终期(规定日期内)全部正常发芽粒数/供试种子数×100%,以第7天发芽种子数计算;(3)鲜重,电子天平称量白三叶幼苗鲜重;(4)干重,将白三叶幼苗放置在80℃的恒温箱中24 h后,直至恒重时以电子天平称重;(5)发芽指数(GI)=Σ(Gt/Dt),Gt为t时间的发芽粒数,Dt为相应的发芽天数(张振明等2005);(6)种子简化活力指数(VI)=GI×S,S为第8天单株幼苗平均鲜重(韩多红和孟红梅2006)。处理之间的平均数差异显著性的多重比较采用Duncan's新复极差法,所有数据均采用DPS2000统计软件包分析(唐启义和冯明光2002)。

## 结果与讨论

### 1 酸水胁迫下 CaCl<sub>2</sub> 溶液浸种的白三叶种子的发芽势和发芽率

从表1可知,酸水胁迫下,采用和未经5~25 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>溶液浸种过的白三叶种子发芽势和发芽率的差异均达到极显著水平( $P<0.01$ )。随着溶液中CaCl<sub>2</sub>浓度的升高,白三叶种子的发芽势和发芽率也逐渐增大。酸水对25 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>溶液浸种过的白三叶种子的发芽势和发芽率的变幅均到最大值,但以此浓度的CaCl<sub>2</sub>溶液处理的白三叶种子发芽势与15 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>溶液浸种的种子发芽势之间差异不显著( $P<0.05$ ),与5 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>溶液浸种的白三叶种子发芽率之间也不显著( $P<0.05$ )。

表1 酸水胁迫下 CaCl<sub>2</sub> 溶液浸种的白三叶种子发芽势和发芽率

Table 1 The germination energy and germination percentage of *T. repens* seeds soaked in CaCl<sub>2</sub> solution under the acid water stress

CaCl <sub>2</sub> 溶液浓度 /mmol·L <sup>-1</sup>	发芽势 /%	发芽率 /%
0	59.33±3.06 <sup>Cd</sup>	62.67±3.06 <sup>Bb</sup>
5	66.67±3.06 <sup>BcCd</sup>	79.33±8.08 <sup>Aa</sup>
10	70.67±4.16 <sup>ABCbc</sup>	82.67±3.06 <sup>Aa</sup>
15	77.33±6.11 <sup>ABab</sup>	84.67±5.03 <sup>Aa</sup>
20	77.33±9.45 <sup>ABab</sup>	87.33±9.02 <sup>Aa</sup>
25	82.00±2.00 <sup>Aa</sup>	88.67±4.16 <sup>Aa</sup>

平均值±标准差,大写字母表示0.01水平显著,小写字母表示0.05水平显著。表2和表3同此。

### 2 酸水胁迫下 CaCl<sub>2</sub> 溶液浸种的白三叶幼苗的鲜重和干重

从表2可知,酸水对5~25 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>溶液浸种过的白三叶幼苗的鲜重和干重与去离子水浸种的差异均达到极显著水平( $P<0.01$ )。酸水对白三叶幼苗鲜重和干重与浸种液中钙浓度的变化趋势一致,即幼苗鲜重和干重随着CaCl<sub>2</sub>浓度的上升而增加。溶液中CaCl<sub>2</sub>浓度增大到25 mmol·L<sup>-1</sup>时的鲜重和干重净增加值达到最大,但这一处理的幼苗鲜重与20 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>溶液处理的幼苗鲜重之间差异不显著( $P<0.05$ ),幼苗干重与15 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>溶液的差异未达到显著水平( $P<0.05$ )。

表2 酸水胁迫下 CaCl<sub>2</sub> 溶液浸种白三叶的幼苗鲜重和干重

Table 2 The seedling fresh and dry weights of *T. repens* seeds soaked in CaCl<sub>2</sub> solution under the acid water stress

CaCl <sub>2</sub> 溶液浓度 /mmol·L <sup>-1</sup>	鲜重 /g	干重 /g
0	0.0301±0.0012 <sup>Ef</sup>	0.0114±0.0007 <sup>Bd</sup>
5	0.0421±0.0011 <sup>De</sup>	0.0160±0.0006 <sup>Cc</sup>
10	0.0485±0.0009 <sup>Cd</sup>	0.0175±0.0007 <sup>Bcb</sup>
15	0.0521±0.0018 <sup>Bc</sup>	0.0187±0.0007 <sup>ABab</sup>
20	0.0596±0.0006 <sup>Ab</sup>	0.0191±0.0004 <sup>Aa</sup>
25	0.0629±0.0016 <sup>Aa</sup>	0.0193±0.0004 <sup>Aa</sup>

### 3 酸水胁迫下 CaCl<sub>2</sub> 溶液浸种的白三叶种子的发芽指数和活力指数

表3显示,酸水胁迫下5~25 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>溶液浸种和未以CaCl<sub>2</sub>溶液浸种的白三叶种子的发芽指数和活力指数差异均达到极显著水平( $P<0.01$ )。

表3 酸水胁迫下CaCl<sub>2</sub>溶液浸种的白三叶种子的发芽指数和活力指数

Table 3 The germination index and vigor index of *T. repens* soaked in CaCl<sub>2</sub> solution under the acid water stress

CaCl <sub>2</sub> 溶液浓度 /mmol·L <sup>-1</sup>	发芽指数 / 粒·d <sup>-1</sup>	活力指数 / 粒·g·d <sup>-1</sup>
0	53.88±5.27 <sup>Cd</sup>	0.0516±0.0027 <sup>De</sup>
5	66.32±4.19 <sup>Bc</sup>	0.0708±0.0061 <sup>CDd</sup>
10	76.83±4.60 <sup>Bb</sup>	0.0903±0.0094 <sup>BCc</sup>
15	91.12±3.37 <sup>Aa</sup>	0.1123±0.0084 <sup>Bb</sup>
20	95.42±7.33 <sup>Aa</sup>	0.1305±0.0058 <sup>Aa</sup>
25	96.97±1.23 <sup>Aa</sup>	0.1380±0.0101 <sup>Aa</sup>

白三叶种子的发芽指数和活力指数与溶液中CaCl<sub>2</sub>浓度呈正相关,即白三叶种子的发芽指数和活力指数均随着CaCl<sub>2</sub>浓度的增大而增大。以25 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>溶液浸种的白三叶种子发芽指数和活力指数与去离子水处理之间的差异最大。25 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>溶液处理的白三叶种子发芽指数与15 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>处理之间的差异不显著( $P < 0.05$ ),与20 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>处理的差异也未达到显著水平( $P < 0.05$ )。

总之,酸水胁迫下5~25 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>溶液浸种对白三叶种子的萌发均有不同程度的保护效应,以15~20 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>溶液为最好。至于酸水胁迫下,CaCl<sub>2</sub>溶液对白三叶其他品种甚至其他植物

种子萌发是否也有类似的促进作用,尚待进一步研究。

### 参考文献

- 韩多红,孟红梅(2006). 重金属镉对阿尔冈金和金皇后种子发芽和出苗的影响. 种子, 25 (10): 71~72
- 黄婷,董召荣,宋贺,李芹芳(2007). 模拟酸雨对紫花苜蓿种子萌发及幼苗生理特性的影响. 种子, 26 (4): 21~24
- 蒋廷惠,占新华,徐阳春,周立祥,宗良纲(2005). 钙对植物抗逆能力的影响及其生态学意义. 应用生态学报, 16 (5): 971~976
- 廖柏寒,蒋青(2001). 我国酸雨中盐基离子的重要性. 农业环境保护, 20 (4): 254~256
- 孟红梅,韩多红,李彩霞,唐学军,朱小红(2007). 酸雨对板蓝根种子萌发的影响. 种子, 26 (8): 5~7, 12
- 邱栋梁,刘星辉,郭素枝(2002). 模拟酸雨胁迫下钙对龙眼光合功能的调节作用. 应用生态学报, 13 (9): 1072~1076
- 唐静,韩宇,陈康,王玉图,刘新(2007). 钙离子参与一氧化氮促进盐胁迫下的玉米种子萌发. 植物生理学通讯, 43 (3): 421~424
- 唐启义,冯明光(2002). 实用统计分析及其DPS数据处理系统. 北京: 科学出版社, 35~46
- 王丽红,周青,曾庆玲(2008). 3类抗性种子萌发过程中糖代谢对酸雨胁迫的响应. 环境科学, 29 (3): 799~803
- 曾庆玲,黄晓华,周青(2005). 酸雨对水稻、小麦和油菜种子萌发的影响. 环境科学, 26 (1): 181~184
- 曾庆玲,梁婵娟,沈东兴,黄晓华,周青(2004). 酸雨对不同抗性植物种子萌发的影响. 农业环境科学学报, 23 (1): 39~42
- 张振明,余新晓,焦健(2005). 干旱胁迫下CoCl<sub>2</sub>对紫花苜蓿种子萌发及幼苗生长的影响. 种子, 24 (5): 1~4
- 周希琴(2005). 木麻黄幼苗对模拟酸雨胁迫的响应和Ca<sup>2+</sup>的调节作用. 植物生理学通讯, 41 (3): 309~312