

铝胁迫对决明属种子萌发与幼苗生长的影响

姚春娟¹, 熊光康², 杨肖华¹, 赖晓莲¹, 郭圣茂^{1*}

(1. 江西农业大学园林与艺术学院, 南昌 330045; 2. 中国林科院亚热带林业实验中心, 分宜 336600)

摘要: 以 3 种决明属植物 (草决明、望江南、伞房决明) 为材料, 采用 $(\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O})$ 分析纯, 设置 5 种不同铝浓度进行胁迫处理, 以探究铝胁迫对 3 种决明属种子萌发及幼苗生长过程的影响。结果表明, 铝胁迫对 3 种决明属种子的萌发有显著影响, 随着铝浓度的增大, 3 种决明属种子的相对发芽率、相对发芽势、相对发芽指数、相对活力指数、相对苗长、相对根长和相对鲜重都受到抑制, 并且随着铝浓度的加剧, 各指标差异越显著, 抑制作用越强。各指标下 3 种决明属种子的耐铝能力各异, 草决明发芽迅速, 发芽率较大, 相对发芽率和相对发芽指数随铝浓度的增加降幅较大, 差异较显著; 望江南发芽率低, 发芽较慢, 相对苗长和相对苗重与其他 2 种种子表现出显著性差异, 其相对苗重、相对根长、相对苗长的降幅较低; 伞房决明的相对发芽率、相对发芽势、相对发芽指数、相对活力指数的降幅较低。通过隶属函数法综合评价认为, 3 种决明属种子的耐铝胁迫的能力排序为草决明>望江南>伞房决明。

关键词: 铝胁迫; 决明属; 种子萌发; 隶属函数法; 综合评价

中图分类号: S567.19; S718.516

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2017)05-0801-05

Effects of *Cassia* on seed germination and growth under aluminum stress

YAO Chunjuan¹, XIONG Guangkang², YANG Xiaohua¹, LAI Xiaolian¹, GUO Shengmao¹

(1. College of Landscape and Art, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045;

2. Experiment Center for Subtropical Forestry, Academy of Forestry, Fenyi 336600)

Abstract: Using three *Cassia* species (*C. obtusifolia*, *C. occidentalis*, and *C. corymbosa*), the effect of aluminum on the growth and development of *Alniphyllum speciosa* (*Cassia obtuse*) was investigated. The result showed that aluminum stress had a significant effect on seed germination of three *Cassia* species. With the increase of aluminum concentration, the relative germination rate, relative germination power, relative germination index, relative vigor index, root length, relative root length and relative fresh weight were all inhibited. The higher the Al, the stronger the inhibition effect. The species showed different abilities in aluminum resistance. *C. obtusifolia* germinated fast with a relatively high germination rate and its relative germination rate and relative germination index suffered obvious difference when concentration of aluminum was increased; while *C. occidentalis* germinated slowly with a relatively low germination rate and its relative weight, root length, and body length decreased slowly compared with other two species when the concentration of aluminum was increased. The relative germination rate, germination potential, germination index and relative vigor index of *C. corymbosa* had a less decrease. According to the comprehensive evaluation by the membership function method, the ability of *Alnus cremastogyne* seeds to resist Al stress was determined as *C. obtusifolia*>*C. occidentalis*>*C. occidentalis*.

Key words: aluminum stress; *Cassia*; seed germination; subordination function method; comprehensive evaluation

铝元素是地壳中含量最丰富的金属元素之一, 通常以难溶性的硅酸盐或三氧化二铝的形式存在,

对植物无害, 但在 pH<5 时, 难溶性的铝会变成可溶性的铝 (Al^{3+}), 对植物产生危害。随着农作物生

收稿日期: 2017-02-21

基金项目: 中央财政林业科技推广示范资金项目 (JXTG (2013) 11 号), 江西省科技支撑计划项目 (20133BBF60012) 和江西省教育厅科技项目 (GJJ13279) 共同资助。

作者简介: 姚春娟, 硕士研究生。E-mail: 1105876426@qq.com

* 通信作者: 郭圣茂, 博士, 副教授。E-mail: shmguo@163.com

产中连续施用含氮和氯化物的生理酸性肥料、工业污染下酸沉降的加重、土壤中豆科植物的固氮作用等,导致土壤酸化范围扩大、面积增加,酸化程度日益加重,使原固定于晶格中的铝逐渐解离并以离子态释放到溶液中,直接危害作物生长^[1-4]。因此,铝毒害被认为是酸性土壤中作物生长最重要的限制因素。决明属(*Cassia* L.)豆科植物,乔木、灌木或草本,约500~600种,分布于亚洲、非洲和美洲热带,在中国南北地区广泛种植约20余种^[5]。该属多种植物以种子入药,如:草决明(*Cassia obtusifolia*)和双荚决明(*Cassia bicapsularis*)具有明目、治眼疾,益肾、解蛇毒,轻身、助肝气,保健和去脂肪等功效^[6-8];望江南(*Cassia occidentalis*)具有肃肺、清肝火,止咳、消肿毒,通腹和利尿尿等功效。而伞房决明(*Cassia corymbosa*)和双荚决明因花美、颜色艳,耐旱、耐贫瘠,固氮和防虫伤等优点成为园林景观的新宠^[9]。此外,该属其他植物也发挥重要作用。

种子萌发和幼苗生长阶段是一种植物能否在铝胁迫下定植的关键时期,其种子萌发速率和幼苗生长特性对植物生长发育具有重要生态指示性^[10-11]。目前,国内外关于农作物在耐铝生理和生态方面的研究较多^[12-14],并在作物毒害和作物耐铝毒机理方面取得了较大进展,而关于药用植物在该方面的报道甚少。作为用途极广的决明属植物在该方面的研究颇少,特别是铝胁迫是否影响决明属植物种子萌发过程尚未见报道。为此,本研究采用不同浓度硫酸铝溶液浸种处理,研究铝胁迫下3种决明属种子萌发特性,探索决明属植物在幼苗期时的铝胁迫反应机制,为此胁迫下决明属植物的生理生长提供理论依据,以期开展耐铝遗传改良提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料:草决明、望江南、伞房决明,3种生长良好的决明属种子。

供试药品:硫酸铝($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$),为分析纯。

1.2 试验设计

根据土壤酸化的趋势,结合前人对相同习性药用植物的铝毒害研究,本次试验将铝浓度梯度设置为 $0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (CK)、 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $2.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,共5个水平。

1.3 测定项目与方法

随机选择大小均匀、饱满一致的种子,先用蒸

馏水清洗种子2~3次,用1%的NaClO溶液浸泡10 min进行杀菌,最后用蒸馏水反复冲洗干净,空气中风干。采用纸床发芽法,选用直径9 cm的带盖培养皿,内铺2层滤纸和3层纱布,每个培养皿放置50粒种子,重复3次。各培养皿加入相应处理液10 mL,每天相同时间用称重法补充失去的水分以保持硫酸铝浓度相对维持不变。用塑料薄膜封口,防止水分蒸发。置于培养箱内,光照周期为12 h/12 h(昼/夜),温度为 $25^\circ\text{C}/20^\circ\text{C}$ (昼/夜)。从第2天开始开盖进行观察记录,以萌发的芽长为其种子长度的一半时作为发芽标准,每天同一时间观察记录萌发情况,统计发芽的种子数,直到出现连续3 d没有新萌发时为发芽结束。待试验结束后,在每个处理中随机选取10株幼苗,测量苗长、根长、鲜重,不足10株的全部测定。测定3种决明属植物种子萌发的相关指标用下列公式计算:

$$\text{发芽率}(\%) = \frac{\text{发芽种子数}}{\text{供试种子数}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{相对发芽率}(\%) = \frac{\text{处理发芽率}}{\text{对照发芽率}} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{相对发芽势}(\%) = \frac{\text{处理发芽势}}{\text{对照发芽势}} \times 100\%$$

$$(\text{发芽势} = \frac{\text{日发芽种子数峰值}}{\text{供试种子数}}) \quad (3)$$

$$\text{相对发芽指数}(\%) = \frac{\text{处理发芽指数}}{\text{对照发芽指数}} \times 100\%$$

$$(\text{发芽指数} = \sum (G_t/D_t), G_t \text{ 为 } t \text{ 天内发芽数, } D_t \text{ 为相应的发芽天数}) \quad (4)$$

$$\text{相对活力指数}(\%) = \frac{\text{处理活力指数}}{\text{对照活力指数}} \times 100\%$$

$$(\text{活力指数} = \text{发芽指数} \times \text{第8天幼苗根鲜重}) \quad (5)$$

$$\text{相对苗长}(\%) = \frac{\text{处理苗长}}{\text{对照苗长}} \times 100\% \quad (6)$$

$$\text{相对根长}(\%) = \frac{\text{处理根长}}{\text{对照根长}} \times 100\% \quad (7)$$

$$\text{相对苗重}(\%) = \frac{\text{处理苗重}}{\text{对照苗重}} \times 100\% \quad (8)$$

1.4 数据处理

采用SPSS 17.0软件和WPS Office表格2013进行统计分析和绘图。

采用模糊数学中的隶属函数值法对铝胁迫下3种决明属种子萌发和幼苗生长进行综合性评价,公式为:

$$X(\mu) = \frac{X - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}}$$

式中, X 是某一指标测定值, X_{max} 是该指标中最大值, X_{min} 是该指标中最小值。

2 结果与分析

2.1 铝胁迫对决明属种子萌发进程的影响

从图 1 可以看出, 铝胁迫下 3 种决明属种子的萌发进程基本相同, 发芽率都是随着铝浓度的升高而逐渐下降, 随着时间的延长而逐渐上升。就同一铝浓度处理下的决明属种子而言, 发芽率最大的是草决明, 其次是伞房决明, 最后是望江南。就同一种子而言, 望江南随着时间的延长, 其发芽率较低, 且 $2.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理下, 发芽率上升很慢, 在第 3 天时, 与 CK 相比, 降幅为 79%, 达最大值; 各处理下的草决明在前 3 天萌发速度很快, 发芽率迅速升高, 第 3 天过后, 增长趋势缓慢, 0.5 和 $1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处

理下, 发芽率几乎没有增长, 且待发芽结束后, 降幅为 39%, 达最小值; 伞房决明随着铝胁迫程度的加剧, 萌发速率变得越来越慢, 在第 4 天时发芽率基本稳定, 在 $2.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理下, 从第 5 天开始, 伞房决明已经停止了发芽。

2.2 铝胁迫对决明属种子萌发的影响

种子的萌发能力一般体现在发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数等指标的变化上, 为了排除种子种类引起的差异, 现对各指标均采用相对值来分析。如表 1 所示, 3 种决明属种子的各指标随着胁迫程度的加剧均呈下降趋势, 进而也表现出显著性差异, 同一浓度处理下, 望江南与其他 2 组都呈现出显著性差异, 而草决明和伞房决明在 CK 处理下差异均不显著。

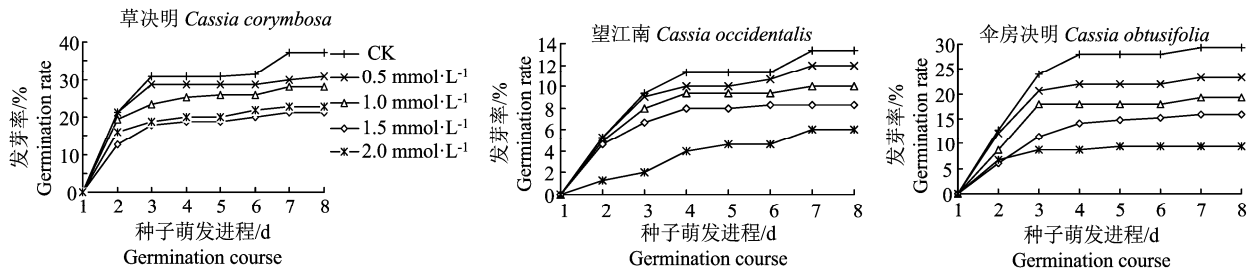


图 1 铝胁迫对 3 种决明属种子萌发进程的影响

Figure 1 Effects of drought stress on seed germination course of *Cassia*

表 1 铝胁迫对决明属种子萌发的影响

Table 1 Effects of drought stress on seed germination of *Cassia*

指标 Indicator	决明属种子 Seed of <i>Cassia</i>	$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 浓度/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ concentration				
		CK	0.5	1.0	1.5	2.0
相对发芽率/% Relative germination rate	草决明 <i>C. obtusifolia</i>	100±2.89 ^a	79.55±6.31 ^b	63.91±1.27 ^c	54.55±2.65 ^c	31.82±2.52 ^d
	望江南 <i>C. occidentalis</i>	100±3.99 ^d	90.00±2.35 ^d	75.00±1.03 ^e	60.00±4.18 ^f	45.00±1.23 ^g
	伞房决明 <i>C. a. corymbosa</i>	100±5.92 ^a	82.14±3.77 ^b	75.00±4.60 ^b	60.71±5.67 ^c	57.14±4.31 ^c
相对发芽势/% Relative germination vigor	草决明 <i>C. obtusifolia</i>	100±4.30 ^a	86.11±1.63 ^b	75.00±3.99 ^{bc}	47.22±3.86 ^d	36.11±5.35 ^e
	望江南 <i>C. occidentalis</i>	100±2.10 ^d	93.33±3.25 ^d	80.00±2.52 ^e	66.67±5.55 ^f	20.00±2.34 ^g
	伞房决明 <i>C. corymbosa</i>	100±6.38 ^a	93.48±2.35 ^a	76.09±1.95 ^b	58.70±1.37 ^c	58.70±0.75 ^d
相对发芽指数/% Relative germination index	草决明 <i>C. obtusifolia</i>	100±6.43 ^a	84.28±2.08 ^b	68.37±4.72 ^{cd}	51.52±6.75 ^d	26.77±1.97 ^e
	望江南 <i>C. occidentalis</i>	100±5.89 ^d	94.82±3.20 ^d	80.17±6.18 ^e	75.32±4.70 ^f	34.60±4.43 ^g
	伞房决明 <i>C. corymbosa</i>	100±7.36 ^a	96.03±2.47 ^a	85.18±5.67 ^b	66.88±3.68 ^c	62.91±3.08 ^c
相对活力指数/% Relative vigor index	草决明 <i>C. obtusifolia</i>	100±6.31 ^a	77.03±1.94 ^b	60.52±3.86 ^{bc}	38.45±2.35 ^d	21.44±5.20 ^e
	望江南 <i>C. occidentalis</i>	100±2.35 ^d	81.11±1.23 ^d	60.24±5.55 ^e	55.97±1.77 ^e	21.10±2.47 ^f
	伞房决明 <i>C. corymbosa</i>	100±1.77 ^a	86.81±4.30 ^a	54.73±2.02 ^b	42.47±1.63 ^c	37.32±1.94 ^c

注: 不同小写字母表示处理在 0.05 水平上差异显著。

Note: Different small letters meant significant difference among treatments at 0.05 level.

由相对发芽率可知, 各处理下的只有在铝浓度为 1.0 和 $2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 3 种决明属种子的相对发芽

率呈显著性差异, 在 $2.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理下, 均与 CK 呈显著性差异, 草决明的相对降幅为 68%, 达最高

水平。由相对发芽势可知，在处理浓度为 1.0 mmol·L⁻¹ 以后，3 种种子随着铝浓度的增大呈显著性差异。在处理浓度为 2.0 mmol·L⁻¹ 下，3 种种子的相对发芽势依次降低 64%、80%和 41%，望江南的降幅最大。由相对发芽指数可知，望江南和伞房决明在 1.0 mmol·L⁻¹ 以后与 CK 才表现出显著性差异。随着铝浓度的加重，伞房决明在 1.5 和 2 mmol·L⁻¹

下并没有表现出差异性，但其最终降幅为 37%，持最低水平。由相对活力指数可知，在铝浓度为 1.0 mmol·L⁻¹ 时，望江南和伞房决明才与 CK 才出现显著性差异，而此浓度下的草决明和伞房决明的差异不显著，而后，随着铝浓度的加重，3 种种子的相对活力指数均表现出显著性差异。

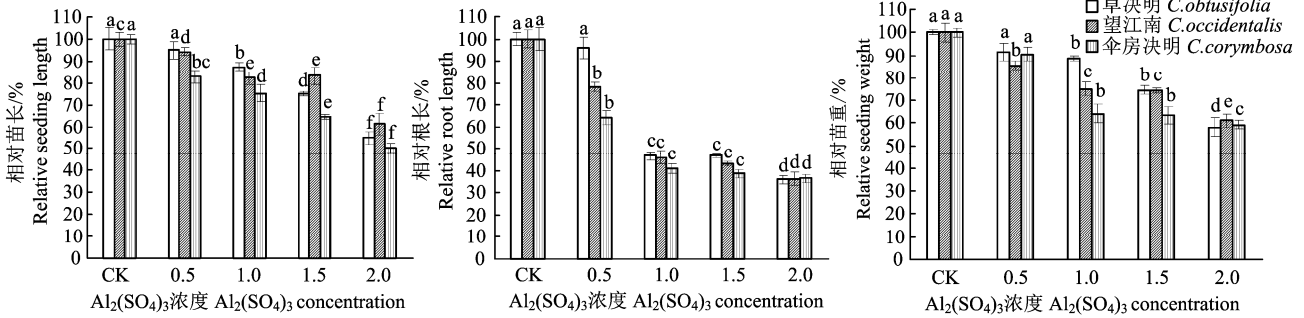


图 2 干旱胁迫对决明属幼苗生长的影响

Figure 2 Effects of drought stress on seedling growth of Cassia

表 2 铝胁迫下各指标的隶属函数值及综合评价

Table 2 Membership values of drought index and comprehensive evaluation of drought resistance

品种 Cultivar	相对发芽率 Relative germination rate	相对发芽势 Relative germination vigor	相对发芽指数 Relative germination index	相对活力指数 relative vigor index	相对苗长 Relative seedling length	相对根长 Relative root length	相对苗重 Relative seedling weight
草决明 <i>C. obtusifolia</i>	0.87	0.86	0.83	0.80	0.86	0.84	0.84
望江南 <i>C. occidentalis</i>	0.91	0.79	0.81	0.78	0.80	0.82	0.81
伞房决明 <i>C. corymbosa</i>	0.84	0.81	0.76	0.83	0.82	0.78	0.67

2.3 铝胁迫对决明属幼苗生长的影响

从图 2 可以看出，铝胁迫对 3 种决明属幼苗的生长产生显著的抑制作用，随着铝胁迫程度的加剧，3 种决明属种子的相对苗长、相对根长和相对苗重逐渐表现出显著性差异，且呈递减趋势。就同一浓度而言，3 种决明属种子的相对根长在各处理浓度下差异不显著，而望江南的相对苗长和相对苗重与其他 2 种种子表现出显著性差异。在相对苗重中，CK 处理下 3 种种子未表现出显著性差异，但随着铝浓度的增加，望江南首先表现出差异，草决明和伞房决明直到最大浓度 2 mmol·L⁻¹ 时才表现出差异性。就同一种子而言，在最大浓度 2 mmol·L⁻¹ 处理下，3 种决明属植物的相对苗长依次分别下降了 45%、39%和 50%，相对根长下降了 65%、64%和 66%，相对苗重下降了 42%、39%和 40%，其中相对根长的降幅最大，望江南的各指标降幅最小。在相对苗长中，望江南除 1.0 和 1.5 mmol·L⁻¹ 差异不显著外，其他各处理间均呈显著性差异。

2.4 铝胁迫下决明属种子各指标的隶属函数值及综合评价

试验采用模糊隶属函数法对 3 种决明属种子的 7 个生长指标进行比较和分析，并对其耐铝胁迫的能力进行综合评价。如表 2 所示，铝胁迫下 3 种决明属种子的各指标隶属函数值范围为 0.67~0.91。同一指标下，3 种种子隶属函数最小值常出现在望江南和伞房决明之间；同一种子下，草决明各指标相对稳定，在 0.80~0.87 之间，望江南和伞房决明隶属函数值范围分别为 0.78~0.91 和 0.67~0.84，波动幅度较大。对 3 种决明属种子隶属函数值求平均值发现：草决明的总隶属函数平均值为 0.84，其抑制铝胁迫的能力最强；伞房决明的总隶属函数平均值为 0.79，抑制铝胁迫的能力最弱；望江南的总隶属函数平均值为 0.82，位于其他 2 种种子之间。所以，就目前测得的各指标而言，3 种决明属种子的萌发期的耐铝性由强到弱依次是：草决明、望江南和伞房决明。

3 讨论与结论

铝是土壤中最丰富的金属元素,但不是植物生长的必须元素,主要以难溶性硅酸盐和氧化物的形式存在。铝毒对植物生长的影响通过抑制根系而阻碍整株植物的生长发育。分子水平上认为,铝毒对生命细胞的危害很大,通过破坏细胞内信号的传导,干扰细胞核的正常分裂,使细胞膜的功能降低,细胞壁加厚,阻碍细胞生长。本研究结果表明,直到发芽结束,与对照组相比较,随着铝浓度的增高3种决明属种子的相对发芽率、相对发芽势、相对发芽指数、相对活力指数、相对苗长、相对根长和相对鲜重都持不同程度降低趋势。这表明铝胁迫对3种决明属种子的萌发和生长产生不同程度的影响,使它们的生物量降低,生长受阻,这与前人的研究一致^[15-16],通过抑制根伸长、生长,引起根尖结构的破坏,进而阻碍植物正常的生长发育,具体表现在细胞学和分子水分方面。但这3种决明属植物种子各指标下各自的耐铝胁迫的能力各异,草决明发芽迅速,发芽率较大,相对发芽率和相对发芽指数随铝浓度的增加,降幅逐渐变大,差异较显著;望江南发芽率低,发芽较慢,相对苗长和相对苗重与其他2种种子表现出显著性差异,其相对苗重、相对根长、相对苗长的降幅较低;伞房决明的相对发芽率、相对发芽势、相对发芽指数、相对活力指数的降幅较低。而隶属函数分析这3种植物的耐铝性,总平均值显示草决明>望江南>伞房决明。本研究排除不同植物的种类影响,采用相对值来分析各指标,就根长的生长情况来检验耐铝性而言,也是草决明>望江南>伞房决明,正好验证了这一说法。总的来说,植物的耐铝性是一种综合能力,影响植物生长发育的各个阶段,所以本研究采用7个指标来客观分析,并利用隶属函数法综合评价3种决明种子耐铝胁迫的能力,结果表明草决明>望江南>伞房决明。

受土壤酸化的影响,作物产量也呈递减趋势,所以开展耐铝遗传改良是保证作物产量的有效途径。决明属植物作为有经济价值的牧草和药用价值的中药材在耐铝性方面研究不发达,所以研究了铝浓度逐渐增大下3种决明属种子的生长方面的变化。研究表明,随着铝浓度的增加,3种决明属植物种子的各项生长指标出现抑制现象,但有研

究表明少量的铝对植物无害,反而具有促进作用,本试验缺乏最适铝浓度对3种决明属种子生理方面的研究,在今后应注重两方面的结合,将铝毒害对3种决明属种子影响补充完善,在有需求的情况下以期研究该属更多的植物。

参考文献:

- [1] 程鹏舞,段金秀.盐胁迫对草地早熟禾种子萌发的影响[J].湖北畜牧兽医,2014,35(10):22-24.
- [2] 李朝苏.三种耐铝植物对铝毒响应的研究[D].金华:浙江师范大学,2006.
- [3] 杨健.红麻种质资源萌发期及苗期的耐盐性鉴定[D].南宁:广西大学,2013.
- [4] CAI Z, WANG B, XU M, et al. Intensified soil acidification from chemical N fertilization and prevention by manure in an 18-year field experiment in the red soil of southern China[J]. J Soil Sediment, 2015, 15(2): 260-270.
- [5] 姚春娟,郭圣茂,杨肖华,等.干旱胁迫下决明属植物光合生理特性日变化研究[J].江西农业大学学报,2016,38(4):687-694.
- [6] 杨志晓,丁燕芳,张小全,等.赤星病胁迫对不同抗性烟草品种光合作用和叶绿素荧光特性的影响[J].生态学报,2015,35(12):4146-4154.
- [7] 陈兰兰,郭圣茂,廖兴国,等.3种决明属种子萌发对干旱胁迫的响应及其抗旱性评价[J].江西农业大学学报,2014,36(5):971-976.
- [8] 高雪芹,伏兵哲,穆怀彬,等.PEG-6000干旱胁迫对沙芦草种子萌发特性的影响及其抗旱性评价[J].种子,2013,32(8):11-16.
- [9] 姚春娟,郭圣茂,赖晓莲,等.三种决明属植物叶绿素荧光特性的比较研究[J].北方园艺,2016,(15):155-157.
- [10] 何磊,陆兆华,管博,等.盐碱胁迫对两种高粱种子萌发及幼苗生长的影响[J].西北植物学报,2012,32(2):362-369.
- [11] GESCH R W, ROYO-ESNAL A, EDO-TENA E, et al. Growth environment but not seed position on the parent plant affect seed germination of two *Thlaspi arvense* L. populations[J]. Ind Crop Prod, 2016, 84(6): 241-247.
- [12] 陈志刚,张红蕊,周晓红,等.铝胁迫对黑麦草种子萌发和幼苗生长的影响[J].水土保持研究,2011,18(4):207-210.
- [13] 祝丽香,王建华,房信胜,等.铝处理对桔梗种子萌发和幼苗生理的影响[J].中国中药杂志,2010,35(24):3255-3259.
- [14] 刘瑞姣,李尚攀,张瑞娥,等.桔梗水浸提液对小麦幼苗的化感作用[J].生物学杂志,2014,31(1):28-32.
- [15] 杨野,王巧兰,赵磊峰,等.铝胁迫下植物根尖细胞壁组成物质变化抑制根伸长的生理机制研究[J].植物营养与肥料学报,2013,19(2):498-509.
- [16] 黄文静,徐晶,邓伦武,等.铝诱导花生根尖活性氧迸发的研究[J].西南农业学报,2014,27(1):87-93.