

# 苜蓿耐盐性研究进展

李 杰<sup>1</sup>,张月学<sup>2</sup>,尚 晨<sup>2</sup>,李信恺<sup>2</sup>,张海玲<sup>2</sup>,张 强<sup>2</sup>,康欣彤<sup>2</sup>

(1. 哈尔滨师范大学 生命科学与技术学院,黑龙江 哈尔滨 150025;2. 黑龙江省农业科学院 草业研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘要:**通过分析盐胁迫对苜蓿种子萌发、产量和品质的影响,阐述了苜蓿耐盐性相关生理机制研究——有机渗透调节、离子吸收、抗氧化能力以及质膜相对透性,总结了苜蓿耐盐性鉴定方法。

**关键词:**苜蓿;盐胁迫;耐盐机制

**中图分类号:**S551<sup>+</sup>.7

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2013)08-0153-03

我国盐碱地主要集中分布在西北、华北和东北干旱、半干旱地区,松嫩平原是东北平原的组成部分,位于大、小兴安岭与长白山脉及松辽分水岭之间,主要由松花江和嫩江冲积而成。由于垦荒初期人们不重视或没有足够的排水系统将土壤中长期积累的盐分及时排除,使得地下水位逐渐升高,低矿化度的灌溉水会快速溶解土壤中的盐分,并随着水分蒸发,将盐分积累于地表面或作用根层,成为次生盐渍化土地,使生态环境严重恶化。松嫩平原盐渍土区总面积达 497.0 万  $\text{hm}^2$ ,是我国内陆三大盐渍土分布区之一<sup>[1]</sup>。

除了土壤退化和荒漠化以外,土壤盐渍化是限制农业生产的最重要的环境因素之一,严重影响植物的生长和生产。植物耐盐性是一个复杂的现象,包括形态学变化和生理生化变化<sup>[2]</sup>。克服土壤盐渍化的方法有:水利改良、土壤深翻改良、生物改良以及增施有机肥等,其中生物改良是通过培育高度耐盐碱作物来对盐渍化地区进行改良<sup>[3]</sup>。

苜蓿是重要的豆科牧草作物的代表,分布或种植在世界大部分地区,在中性或轻度盐碱地上能够良好生长,是比较耐盐的牧草<sup>[4]</sup>。如果进一步提高苜蓿耐盐性,不但可以增加饲草产量,减缓我国蛋白质饲料的不足,而且还可以大大提高盐碱地的利用率。大面积种植苜蓿对地面覆盖、防止水土流失效果显著,对农业种植结构调整有一定的指导作用<sup>[5]</sup>。此外,多年生牧草能够抑制部分杂草的生长,从而减少农药的使用,因此,大面

积种植牧草为改善生态环境、减轻农业污染奠定了基础,也为今后发展生态农业、开发绿色食品以及促进农业可持续发展起到了推动作用。

## 1 盐胁迫对苜蓿的影响

### 1.1 盐胁迫对苜蓿种子萌发的影响

苜蓿种子在膨胀、吸水、萌发、胚根生长和发育成苗的过程中,盐浓度会影响苜蓿种子发芽势和发芽率。在盐胁迫下,苜蓿种子在低浓度( $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )时有较高的发芽势,说明低浓度盐胁迫可促进种子萌发;高浓度( $86 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上)时,发芽势呈急剧下降趋势,李潮流<sup>[6]</sup>等认为盐胁迫对种子萌发有抑制作用。在植物发育过程中,根是最直接接触盐渍环境的器官,因此胚根长和胚轴长是苜蓿耐盐性的重要指标。低浓度胁迫下,NaCl 对苜蓿的胚根生长和胚芽生长有促进作用;当浓度逐渐升高并超过临界点( $51 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )后,苜蓿的胚根长和胚芽长均急剧下降。

### 1.2 盐胁迫对苜蓿产量的影响

盐胁迫会抑制苜蓿的生长,降低苜蓿的产量。产量降低幅度因苜蓿耐盐程度不同而不同、也与盐渍化程度和盐离子组成有关。李品芳<sup>[7]</sup>等研究指出,随盐度水平的增加(土壤全盐量  $0.17\% \sim 0.69\%$ ),苜蓿的茎叶干重日相对生长速率显著降低,减少  $39.5\% \sim 77.5\%$ 。同时,苜蓿在土壤全盐量  $0.69\%$ 处理 21 d 后,植株出现萎蔫、死亡现象。桂枝等<sup>[8]</sup>的研究也出现相同的结果。说明盐胁迫抑制植物干物质积累和根系吸收水分,阻碍苜蓿生长,降低苜蓿干草和鲜草产量,随着盐浓度的增加,鲜草产量逐渐下降。

### 1.3 盐胁迫对苜蓿品质的影响

徐恒刚等<sup>[9]</sup>认为随着土壤含盐量的增多,植株体内的粗蛋白质、粗脂肪和粗灰分的含量增多,

收稿日期:2013-03-13

第一作者简介:李杰(1988-),女,黑龙江省佳木斯市人,在读硕士,从事牧草遗传与育种研究。E-mail: hunkuncle@163.com。

通讯作者:张月学(1954-),女,黑龙江省巴彦县人,硕士,研究员,从事牧草资源育种研究。

粗纤维的含量则减少。桂枝等<sup>[10]</sup>对盐胁迫下紫花苜蓿品质进行的研究结果表明,盐胁迫对苜蓿粗蛋白和粗纤维的含量影响不显著,而对粗灰分的影响呈显著差异。前者采用田间试验,后者采用盆栽试验,而且二者试验材料也不相同,所以结果有一定的差异。盆栽试验产量指标的可靠性有限,要得到更加客观、准确的结论有必要结合田间试验的结果。

## 2 苜蓿耐盐性生理机制

### 2.1 苜蓿耐盐性与有机渗透调节

有机渗透调节是苜蓿耐盐的方式之一,是指在一定的盐浓度范围内,苜蓿细胞会主动通过积累渗透调节质(如游离脯氨酸)来调节细胞渗透势,从而保证水分正常供应。有人认为渗透调节质的积累是其组成性超表达的表现,可以增加植物对渗透胁迫的耐受性<sup>[11-14]</sup>;但也有不少人认为渗透调节质的积累只是胁迫的结果,与耐盐性之间缺少相关性。可溶性糖也是主要有机渗透调节物质之一,其含量同样随盐浓度的增加而增加,李源<sup>[15]</sup>等的试验结果证实了这一点。

### 2.2 苜蓿的耐盐性与离子吸收

在盐胁迫下,由于盐离子和矿质元素离子的相互作用,影响了植物对营养元素的吸收、利用和分配的平衡,造成植物对一些必需营养元素的需求量增加。高浓度的 $\text{Na}^+$ 导致大量电解质(主要是 $\text{K}^+$ )向细胞外渗漏,使叶片光合速率下降,同时叶片中 $\text{K}^+$ 的含量降低,会使叶片生长受阻,对植株产生毒害作用。李品芳等<sup>[16]</sup>指出苜蓿对 $\text{Na}^+$ 的吸收累积能力比较强,而对N、P、K的吸收利用受到抑制,尤其是 $\text{K}^+$ 含量迅速减少,植株 $\text{K}^+/\text{Na}^+$ 大幅降低,对苜蓿造成毒害。研究表明,植株地上部分 $\text{K}^+/\text{Na}^+$ 越高者耐盐性越强, $\text{Na}^+$ 和 $\text{Cl}^-$ 积累的能力及高 $\text{K}^+/\text{Na}^+$ 比率的保持能力也与牧草的耐盐性有关<sup>[17]</sup>。

### 2.3 苜蓿的耐盐性与抗氧化能力

苜蓿受到盐胁迫时,活性氧化物的清除系统受到影响,氧自由基增多而出现氧化物胁迫,为了防止氧化损伤这一现象的出现,植株需要抗氧化酶来清除这些多余的氧自由基,耐盐性强的株系抗氧化酶活力高,这样有助于清除氧自由基,降低膜受损程度。超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶,这3种抗氧化物酶可以保护细胞膜免受自由基伤害,金兰等<sup>[18]</sup>证明紫花苜蓿植株内超氧化物歧化酶的活性和盐胁迫浓度有关;王玉祥

等<sup>[19]</sup>认为超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶活性可以作为鉴定苜蓿耐盐性的重要指标。

### 2.4 苜蓿的耐盐性与质膜相对透性

细胞膜是活细胞和环境之间的界面与屏障。盐胁迫会使质膜透性增大并发生膜脂过氧化作用,损坏细胞膜,严重时可导致细胞死亡。李源等<sup>[14]</sup>和肖雯等<sup>[20]</sup>研究发现,苜蓿的膜透性随盐浓度的增加而增大,而且膜透性增大越多的苜蓿品种,其细胞膜的损坏程度越严重。相对电导率可以指示细胞膜透性的变化,丙二醛是膜脂过氧化作用的产物,二者都能显示细胞膜受损伤程度,可以作为植物耐盐性评价的生理指标。

## 3 苜蓿耐盐性鉴定方法

在评价苜蓿耐盐性时,不同苜蓿的农艺性状与生理生化性状对盐胁迫的反应均不相同。因此,选用形态指标还是生理生化指标,单一指标还是综合指标来评价苜蓿对盐胁迫的抗性,是苜蓿耐盐性研究人员关注的重点问题。经过多年研究积累,总结出目前主要应用的苜蓿耐盐性评价方法有2种,即室内鉴定和分子辅助鉴定法。

### 3.1 室内鉴定法

根据鉴定介质划分,苜蓿室内耐盐性鉴定的方法可以分为沙培法、滤纸法、营养液筛选法和培养基法等。室内鉴定苜蓿耐盐性具有耗时短、检测量大、重复性强和环境影响小等优点。霍平慧等<sup>[21]</sup>采用沙培法对盐胁迫下超干处理苜蓿种子萌发及幼苗生长进行了研究;韩清芳等<sup>[22]</sup>采用滤纸法对19个苜蓿品种进行种子萌发期耐盐性鉴定;王珺等<sup>[23]</sup>采用营养液筛选法评价了3个紫花苜蓿耐盐性;王玉祥等<sup>[19]</sup>用基本培养基为1/2MS培养基来培育无菌苗进行发芽试验,通过测定发芽势、可溶性糖和丙二醛含量等指标来评价6个苜蓿品种的耐盐性。

目前评价苜蓿耐盐性的形态测定指标有:发芽势、发芽率、生长势、鲜重以及膜透性等,其中使用最广泛的是发芽率和膜透性。生理生化指标有:脯氨酸含量、抗氧化物酶活性、 $\text{Na}^+$ 含量、 $\text{K}^+$ 含量、 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ 等。植物耐盐力的大小是多种代谢的综合表现,苜蓿各项测量指标与盐浓度之间的相关性表现并不完全一致,不同材料以及株系间的耐盐指标均有差异。盐胁迫下各项生理指标(如发芽率、膜透性、游离脯氨酸含量和保护酶活性等)的变化受诸多因素的影响,而且与耐盐性有关的单项理化指标缺乏系统性研究,对耐盐性

进行评价还有一定的局限性。选取不同的耐盐性鉴定指标,鉴定结果可能并不一致,应考察多个指标并将其结合起来考虑才能得出较为客观、准确的结论。李源等<sup>[15]</sup>以中苜 1 号为对照,对俄罗斯的 18 份紫花苜蓿种质的耐盐性进行了综合评价,并对盐胁迫下的生理反应进行了初步研究,结果表明,随盐浓度的增加,叶水势呈下降趋势,游离脯氨酸、可溶性糖和丙二醛的含量则呈上升趋势,细胞膜透性和水分饱和和亏缺均随盐浓度增加而增大,不同材料的变化幅度也存在差异。不过由于室内试验环境和实际生产应用有较大差异,室内鉴定结果最好作为苜蓿耐盐性评价的参考指标,将筛选出的耐盐品种应用于实际生产,必须结合田间试验的结果。

### 3.2 分子辅助鉴定法

耐盐性鉴定方法几乎都是测定植株形态或生理指标,分子标记辅助鉴定为耐盐性鉴定提供了新方法。张丽娜<sup>[25]</sup>等从 DNA 水平出发,利用 SSR 技术,寻找与耐盐性有关的标记,并采用多标记组合法对耐盐性进行鉴定,同时通过大田鉴定来验证分子鉴定结果的可靠性,从而初步建立一种可以快速准确进行耐盐性鉴定的方法,提高耐盐种质筛选效率,加快耐盐育种进程。燕丽萍<sup>[26]</sup>等人采用农杆菌介导技术将山菠菜甜菜碱脱氢酶基因(BADH)导入苜蓿受体材料中苜 1 号的外植体中,获得了 PCR 阳性植株。耐盐试验结果表明,转基因植株具有较强的抗盐性。

## 4 结论

经过几十年的发展,苜蓿的耐盐性研究已经取得了一定的成绩,到目前为止,改良苜蓿的抗盐性仍然是一个应用前景广阔但研究相对比较薄弱的环节。尽管许多学者从各方面做了大量的工作,对苜蓿耐盐性机理及苜蓿抗盐性鉴定指标进行了探索,但由于对各种生理变化间的内在联系研究不够深入,对苜蓿的耐盐性机理和抗盐性状遗传的揭示尚不深入,还未形成一个快速、简洁、准确的抗逆性鉴定指标体系。此外,各项生理指标的测定易受环境因素影响,不能准确的评价植株耐盐性。

随着人们对牧草的重视,对其抗逆性的研究越来越深入,特别是随着分子生物学技术的发展,苜蓿适应和抵御逆境的机制将逐渐被人们所认识并加以利用,从而最大限度的挖掘苜蓿自身的生物学潜力,培育出更多品质优良的苜蓿抗逆品种,

选育出能在不良环境条件下生长良好的苜蓿新品种,以期有效地改良盐碱地,增加苜蓿的产量,缓解国内苜蓿品种短缺的局面。

### 参考文献:

- [1] 王晶,肖延华,朱平,等. 松嫩平原盐渍土的发展演化与影响因素[J]. 吉林农业科学,1995(2):66-71.
- [2] Francoise Fougere, Daniel Le Rudulier, John G. Streeter. Effects of salt stress on amino acid, organic acid, carbohydrate composition of roots, bacteroids, and cytosol of alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. Plant Physiol, 1991, 96: 1228-1236.
- [3] 高淑梅, 周继伟. 松嫩平原盐碱土现状及改良措施[J]. 现代化农业, 2011(6): 13-15.
- [4] 阎旭东, 朱志明, 李桂荣, 等. 六个苜蓿品种特性分析[J]. 草地学报, 2001, 9(4): 302-306.
- [5] Ben chanbane A. Salt tolerance variability of wild alfalfa during germination[J]. Investigation-Agraria production-y-protection-vegetables, 1993(8): 29-35.
- [6] 李潮流, 周湖平, 张国芳, 等. 盐胁迫对多叶型苜蓿种子萌发的影响[J]. 中国草地, 2004, 26(2): 21-25.
- [7] 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, 7(2): 211-217.
- [8] 桂枝, 高建明, 袁庆华. 盐胁迫对紫花苜蓿品质和产量的影响[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(19): 7990-7992.
- [9] 徐恒刚, 张萍, 李临杭, 等. 对牧草耐盐性测定方法及其评价指标的探讨[J]. 中国草地, 1997(5): 52-54.
- [10] 桂枝, 高建明, 袁庆华. 盐胁迫对紫花苜蓿品质的影响[J]. 天津农学院学报, 2008, 15(2): 7-10.
- [11] 白桦, 王玉国. 外源脯氨酸对盐胁迫下大豆愈伤组织蛋白质含量的影响[J]. 山西农业大学, 2002, 22(3): 193-195.
- [12] 桂枝, 高建明. 盐胁迫对 6 个苜蓿品种脯氨酸含量和超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 2007, 14(4): 18-21.
- [13] Sanada Y, Veda H, Kuribayash I K, et al. Novel light-dark change of proline levels in halophyte (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) and glycophytes (*Hordeum vulgare* L. and *Triticum aestivum* L.) leaves and roots under salt stress[J]. Plant Cell Physiol, 1995, 36(6): 965-970.
- [14] Santa-Cru Z A, Acosta M, Rus A, et al. Short-term salt tolerance mechanisms in differentially salt tolerant tomato species [J]. Plant Physiol Biochem, 1999, 37(1): 65-71.
- [15] 李源, 刘贵波, 高洪文, 等. 紫花苜蓿种质耐盐性综合评价及盐胁迫下的生理反应[J]. 草业学报, 2010, 19(4): 79-86.
- [16] 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, 7(2): 211-217.
- [17] 景欣, 张旸, 李玉花. 植物耐盐研究进展[J]. 生物技术通讯, 2010(2): 150-154.
- [18] 金兰, 罗桂花. 盐胁迫对紫花苜蓿 SOD 丙二醛及 SOD 同工酶的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2004(5): 15-16.