

不同根型苜蓿苗期对干旱胁迫的生理耐受性分析

南丽丽^{1,2}, 师尚礼^{1,2}, 朱新强^{1,2}, 赵文翰^{1,2}, 韩露^{1,2}, 田晨霞^{1,2}

(1. 甘肃农业大学草业学院, 甘肃 兰州 730070;

2. 草业生态系统教育部重点实验室/中美草地畜牧业可持续发展研究中心, 甘肃 兰州 730070)

摘 要: 为探讨不同根系类型苜蓿对干旱胁迫的生理生化适应机制, 采用盆栽模拟土壤干旱条件, 以根茎型、直根型和根蘖型苜蓿为材料, 测定不同根系类型苜蓿叶片相对含水量、叶绿素、可溶性糖、脯氨酸和 MDA 的含量及 SOD 活性。结果表明, 不同根系类型苜蓿叶片相对含水量及叶绿素含量随干旱胁迫程度增强而降低, 直根型陇东苜蓿降低程度小于其他苜蓿材料; 叶片可溶性糖、脯氨酸和 MDA 的含量及 SOD 活性随干旱程度的增加而升高, 其中可溶性糖含量根茎型清水苜蓿和根蘖型甘农 2 号杂花苜蓿增幅较大, 脯氨酸含量和 SOD 活性根蘖型野生黄花苜蓿增幅较大, MDA 含量直根型陇东苜蓿增幅较大。经隶属函数综合分析, 4 份材料抗旱性强弱顺序为根蘖型黄花苜蓿 > 直根型陇东苜蓿 > 根茎型清水紫花苜蓿 > 根蘖型甘农 2 号杂花苜蓿。

关键词: 苜蓿; 根系类型; 生理生化; 抗旱性

中图分类号: S332.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2011)05-0106-05

苜蓿 (*Medicago sativa*) 是重要的豆科牧草, 具有营养价值高、适口性好、适应性强等特点, 在全世界范围内分布广泛。在我国, 苜蓿也是许多农牧区的首选草种^[1]。苜蓿的根系可划分为直根型 (tap rooted)、侧根型 (branch rooted)、根蘖型 (creeping rooted) 和根茎型 (rhizomatous rooted) 四类^[2]。直根系苜蓿基因源主要来自于紫花苜蓿, 侧根型、根蘖型和根茎型苜蓿都不同程度地具有野生黄花苜蓿的基因^[3], 所以一般认为其对干旱的抵抗力较强。但引种观察表明, 在一些地区并不表现出比直根型苜蓿更抗旱^[4]。

长期以来, 国内外学者对直根型和根蘖型苜蓿的引种^[4,5]、育种^[6,7]、种质资源的收集、分类^[8]、抗性评价^[9-11]等方面已有很多研究报道, 有关根茎型苜蓿的研究报道较少, 对不同根系类型苜蓿抗旱性的研究鲜见文献报道。本研究以根茎型、根蘖型、直根型苜蓿为材料, 盆栽模拟土壤干旱条件, 从生理生化角度探讨不同程度干旱胁迫对 3 类根系类型苜蓿的影响及抗旱性差异, 为不同根系类型苜蓿在生产中的推广和应用提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料: I. 根茎型清水紫花苜蓿 (*Medicago sativa* L. cv. Qingshui)、II. 根蘖型野生黄花苜蓿材料

(native *Medicago falcata* material)、III. 根蘖型甘农 2 号杂花苜蓿 (*Medicago varia* Martin. cv. Gannong No. 2)、IV. 直根型陇东苜蓿 (*Medicago sativa* L. cv. Longdong)。其中, I、III、IV 种子均由甘肃农业大学草业学院提供, II 的种子由中国农业科学院草原研究所提供。

1.2 试验方法

试验于 2010 年 4~7 月份在甘肃农业大学温室中进行。将各苜蓿种子播种在口径为 12 cm、高 12 cm 塑料花盆中, 盆内装经过筛的干土 1 kg, 土壤基质配置为土: 腐殖质 = 1:6。种子均匀撒播于盆中, 轻轻用土覆盖 1.5 cm, 然后用水浇透, 待苗齐后间苗、定苗, 每盆选留长势均匀的苗 10 株。土壤基质养分含量为: 有机质 10.64 g/kg、全氮 4.94 g/kg、全磷 2.38 g/kg、碱解氮 88.2 mg/kg、速效磷 31.58 mg/kg、速效钾 214.92 mg/kg、pH 值 8.25。

播种后第 60 天采用称重法控制水分, 分别达到 4 个等级, 即对照 (CK)、轻度 (LS)、中度 (MS) 和重度 (SS) 水分胁迫, 盆栽土壤最大田间持水量为 26.1%, 4 个处理的土壤含水量分别为最大田间持水量的 75%~80%、60%~65%、45%~50% 和 30%~35%。达到处理的标准后维持 15 d 取样, 取样时间为上午 8:00~9:00, 每处理选取生长较一致的苜蓿材料 3 株, 3 次重复。冲洗干净叶片后, 用滤纸吸干

收稿日期: 2011-01-20

基金项目: 国家科技部“西北优势和特色牧草生产加工关键技术研究示范 (2007BAD52B06)”、“青藏高原高寒区优质丰产饲草新品种选育及产业化示范” (2008BADB3B07); 农业部行业专项“人工草地优质牧草生产技术研究示范” (nyhyzx07-022) 和国家现代牧草产业技术体系建设专项资助

作者简介: 南丽丽 (1979—), 女, 甘肃天水人, 讲师, 博士生。主要从事草种质资源与育种研究。E-mail: nanll@gsau.edu.cn。

通讯作者: 师尚礼, E-mail: shishl@gsau.edu.cn。

多余水分,封入密封袋并迅速放入液氮中速冻,贮存于 -80°C 超低温冰箱,用于生理指标的测定。

1.3 测定指标及方法

叶片相对含水量采用饱和称重法;叶绿素含量采用 SPAD-502 型叶绿素测定仪测定;可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定;脯氨酸含量采用酸性茚三酮法测定;丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定;超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑光化还原法测定^[12]。

1.4 数据处理

用 Excel 和 SPSS 统计软件进行分析。应用 Fuzzy 数学中隶属度函数法^[13]进行综合评判,对与抗旱性呈正相关的参数如相对含水量、叶绿素、可溶性糖、脯氨酸和 SOD 采用公式 $F_{ij} = (X_{ij} - X_{jmin}) / (X_{jmax} - X_{jmin})$ 计算;对与抗旱性呈负相关的 MDA 采用公式 $F_{ij} = 1 - (X_{ij} - X_{jmin}) / (X_{jmax} - X_{jmin})$ 计算。式中, F_{ij} 为 i 品种的 j 性状测定的具体隶属值; X_{ij} 为 i 品种 j 性状测定值; X_{jmin} 为 j 性状中测定的最小值; X_{jmax} 为 j 性状中测定的最大值。

2 结果与分析

2.1 叶片相对含水量的差异分析

逆境条件下植物叶片相对含水量可反映植物的

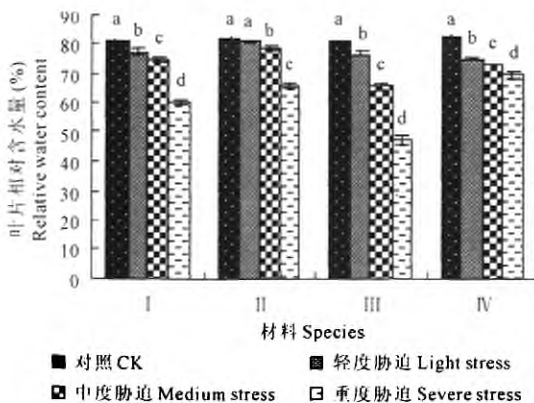


图 1 不同根系类型苜蓿叶片相对含水量的变化

Fig.1 Changes of relative water content of root types of alfalfa

2.3 可溶性糖含量的比较

可溶性糖是植物在胁迫条件下细胞内的保护物质,它可有效地提高细胞的渗透浓度,降低水势,增加保水能力,对原生质体起到保护作用。图 3 显示,各根系类型苜蓿可溶性糖含量随胁迫强度的增加都有不同程度上升,且在 3 种干旱胁迫下均显著 ($P < 0.05$) 高于对照。重度胁迫下, I 和 III 增幅较大,分别增加了 3.35% 和 3.51%; II 和 IV 增幅较小,分别增加了 0.83% 和 1.66%。表明重度干旱胁迫发生

保水能力,是标志植物水分状况的重要指标^[14]。图 1 显示,各根系类型苜蓿叶片相对含水量随干旱胁迫程度的增加呈降低趋势,其中 II 在轻度胁迫下与对照差异不明显,中度、重度胁迫下显著 ($P < 0.05$) 低于对照;其余材料在 3 种胁迫下均显著 ($P < 0.05$) 低于对照。重度胁迫下,材料 I、II、III、IV 的叶片相对含水量比对照分别下降了 21.28%、16.00%、33.99%、13.25%,可见材料 II、IV 在土壤发生干旱胁迫时叶片保水能力相对较强。

2.2 叶绿素含量的变化

叶绿素是绿色植物进行光合作用的主要色素,其含量的多少与牧草的光合作用及其强度有密切的关系。由图 2 看出,各根系类型苜蓿叶绿素含量都随干旱胁迫的加重而降低,其中 I 和 II 在轻度、中度胁迫下叶绿素含量与对照差异不显著,重度胁迫下显著 ($P < 0.05$) 低于对照; III 在 3 种胁迫下均显著 ($P < 0.05$) 低于对照; IV 在各胁迫下与对照差异不显著。重度胁迫下,叶绿素含量降幅较大的为 I 和 III,分别降低了 8.36% 和 9.46%,降幅较少的为 IV,降低了 2.14%。表明干旱胁迫对 IV 的叶绿素含量破坏不严重。相关分析表明,叶绿素与叶片相对含水量呈极显著正相关 ($r = 0.879, P < 0.05$)。

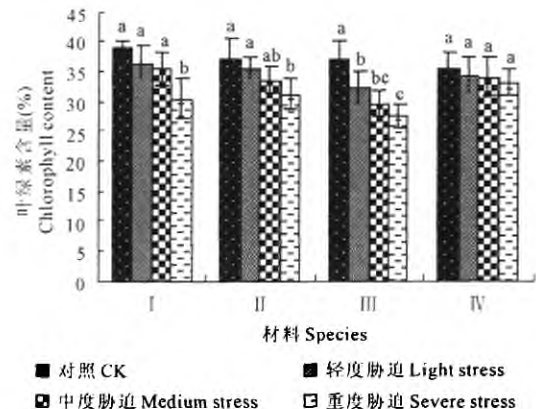


图 2 不同根系类型苜蓿叶绿素含量的变化

Fig.2 Changes of chlorophyll content of root types of alfalfa

时, I 与 III 的可溶性糖调节作用相对较强,有利于植株在干旱环境中维持正常的水分生理作用。

2.4 脯氨酸含量的变化

脯氨酸是植物在逆境条件下积累的一种小分子渗透调节物质。由图 4 可见,干旱胁迫下各根型苜蓿叶片脯氨酸含量均显著 ($P < 0.05$) 高于对照。重度胁迫下,各根系类型苜蓿脯氨酸积累量达到最大,其中增幅较大的为 II,比对照增加了 $140.41 \mu\text{g/g}$;增幅较小的为 I,比对照增加了 $23.71 \mu\text{g/g}$ 。

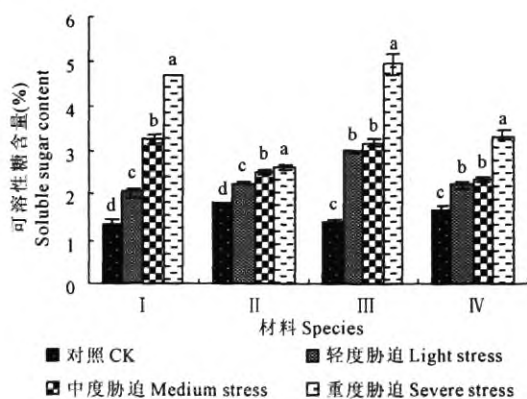


图 3 不同根系类型苜蓿可溶性糖含量的变化

Fig.3 Changes of soluble sugar content of different root types of alfalfa

2.5 SOD 活性的变化

一般认为各种逆境条件下都会有活性氧自由基的伤害^[15],SOD 是活性氧清除体系中的关键酶。图 5 显示,随着胁迫程度的加深,各根系类型苜蓿 SOD 活性都逐渐增多,其中除轻度胁迫下 IV 号叶片 SOD 活性与对照差异不明显外,II、III、IV 在不同干旱胁迫下叶片 SOD 活性都显著 ($P < 0.05$) 高于对照; I 在 3 种胁迫下 SOD 活性与对照差异均不显著。重度胁迫下,各苜蓿 SOD 活性分别比对照增加了 0.23、3.60、2.80 和 0.40 U/g,其中 II 增加最为显著。

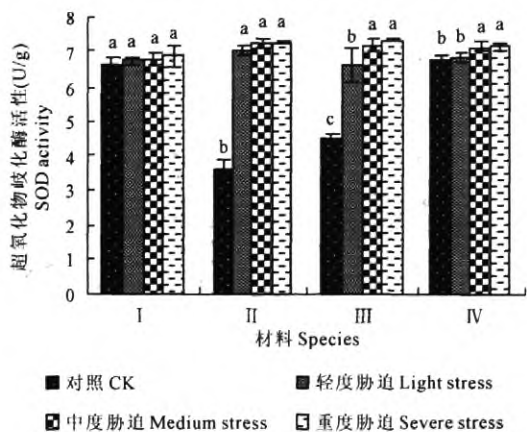


图 5 不同根系类型苜蓿超氧化物歧化酶活性的变化

Fig.5 Changes of SOD activity of different root types of alfalfa

2.7 抗旱性综合评价

苜蓿的抗旱性是一个受多因素影响的、复杂的数量性状,用单一指标难以全面准确地反映品种抗旱性的强弱,必须用多个指标进行综合评价。本文采用隶属函数法,将各材料各项指标的隶属函数值加起来求其平均值得其综合评价,综合评价值越大,抗旱性越强,反之则弱。表 1 为各根系类型苜蓿 6 项抗旱参数的综合评判结果,抗旱性强弱顺序为:根蘖型黄花苜蓿 > 直根型陇东苜蓿 > 根茎型清水紫

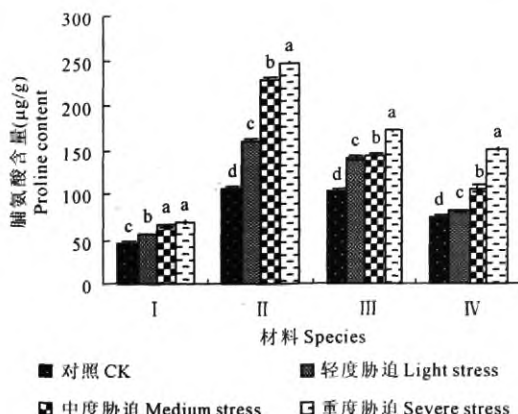


图 4 不同根系类型苜蓿脯氨酸含量的变化

Fig.4 Changes of proline content of different root types of alfalfa

2.6 MDA 含量的变化

植物器官干旱胁迫下受到伤害往往发生膜过氧化作用,MDA 是膜脂过氧化最终分解产物,其含量可以反映植物遭受干旱伤害的程度^[16]。图 6 显示,随干旱胁迫程度加深各根系类型苜蓿 MDA 含量都有不同程度上升,且显著 ($P < 0.05$) 高于对照。重度胁迫下,与对照比较,材料 IV 的 MDA 增加幅度较大,增加了 $61.11 \mu\text{mol/g}$;其次之;I、II 增加幅度较小,分别增加了 $33.73 \mu\text{mol/g}$ 和 $28.90 \mu\text{mol/g}$,且含量较低,表现出较强的抗氧化胁迫能力。

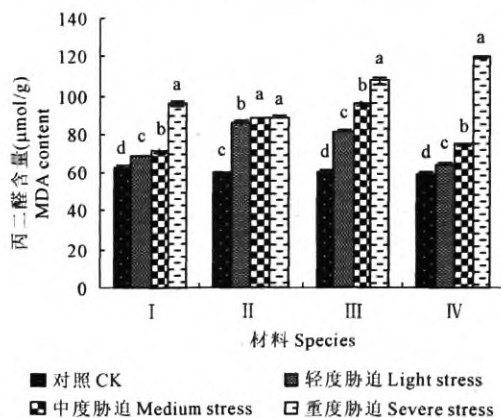


图 6 不同根系类型苜蓿丙二醛含量的变化

Fig.6 Changes of MDA content of different root types of alfalfa

花苜蓿 > 根蘖型甘农 2 号杂花苜蓿。

3 结论与讨论

相对较高的叶片相对含水量可以有效地保持叶绿体的结构和 PS II 功能,使植物进行有效的光合作用^[17]。李崇巍等^[18]研究表明,能维持较高相对含水量的植物,其抗旱能力亦较强。整个胁迫阶段,III 的叶片相对含水量降幅最大,反映出苗期 III 叶片保水能力相对于其他 3 份苜蓿较差,对干旱环境的适

表 1 不同根型苜蓿抗旱性综合评价
Table 1 Comprehensive appraisal of drought resistance of different root types of alfalfa

品种 Varieties	相对含水量 Relative water content	叶绿素 Chlorophyll	可溶性糖 Soluble sugar	脯氨酸 Proline	丙二醛 MDA	超氧化物 歧化酶活性 SOD activity	均值 Mean
I	0.72	0.63	0.42	0.07	0.73	0.85	0.57
II	0.82	0.56	0.26	0.69	0.62	0.72	0.61
III	0.57	0.37	0.49	0.46	0.54	0.75	0.53
IV	0.77	0.56	0.29	0.29	0.65	0.91	0.58

应能力较弱。干旱胁迫不仅影响叶绿素的生物合成,而且加快已经合成的叶绿素的分解^[19]。研究发现,干旱胁迫下,Ⅲ的叶绿素含量低于其他材料,表明其抵抗逆境胁迫的能力较弱。可溶性糖和脯氨酸作为重要的渗透调节物质,干旱胁迫下迅速增加,能降低渗透势,维持膨压,是植物适应干旱胁迫的一种重要机制^[20];也有研究认为脯氨酸累积与品种的抗旱性无关^[21]。本研究表明,苜蓿苗期叶片可溶性糖含量和脯氨酸含量随土壤水分的减少而呈增加趋势,Ⅰ、Ⅲ的可溶性糖调节作用相对较强,Ⅱ的脯氨酸含量增幅最大。植物在遭受环境胁迫时,活性氧会大大增加^[22],SOD 是最有效的保护酶^[23],可通过清除干旱胁迫诱导产生的细胞内活性氧自由基,抑制膜内不饱和脂肪酸的过氧化作用,维持细胞质膜的稳定性和完整性,提高植物对干旱胁迫的适应性。4 份材料叶片 SOD 酶活性随着干旱程度的增加而逐渐增强,Ⅱ的 SOD 酶活性的变化程度更明显,表明干旱胁迫下,Ⅱ能通过增强保护酶活性以避免干旱对其造成伤害,从而增强抗旱性。

抗旱性是一个受多种因素影响的复杂数量性状,不同植物对某一具体指标的抗旱性反应不一定相同,单一的指标难以全面而准确地反应抗旱性的强弱。因此,本试验运用 Fuzzy 数学隶属函数综合评判法,对叶片相对含水量、叶绿素、可溶性糖、脯氨酸、SOD 及丙二醛 6 个生理生化参数进行综合分析,得出其抗旱性顺序为:根蘖型黄花苜蓿>直根型陇东苜蓿>根茎型清水紫花苜蓿>根蘖型甘农 2 号杂花苜蓿。根蘖型黄花苜蓿抗旱性最强,此结果与陈敏^[24]、王俊杰^[25]报道的黄花苜蓿整体抗旱能力显著高于紫花苜蓿的结果一致。另外从材料特性分析,黄花苜蓿抗寒性强,Jung^[26]研究证明了耐寒苜蓿材料 also 具有很强的抗旱性,二者机理有一定的相关性;直根型陇东苜蓿抗旱性较强,此结果与康俊梅^[11]、宋淑明^[27]、周瑞莲^[28]和余玲^[10]等研究结果一致;根茎型清水紫花苜蓿抗旱性中等,与其来源于甘肃清水灌丛草原地带相关,为野生栽培驯化品种,

是长期适应干旱条件的结果。

参 考 文 献:

[1] 杨青川.苜蓿生产与管理指南[M].北京:中国林业出版社,2003:8—68.

[2] 刘志鹏,杨青川,呼天明.侧根型紫花苜蓿遗传基础及其育种研究进展[J].中国草地,2003,25(3):66—71.

[3] 王铁梅.苜蓿根蘖性状发生及其调节机制研究[D].北京:北京林业大学,2008.

[4] 洪绶曾,吴义顺,于康富.根蘖型苜蓿引种研究[J].中国草业科学,1987,(5):1—4.

[5] 王成章,许向阳,杨雨鑫.不同紫花苜蓿品种引种试验研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2002,30(3):29—31.

[6] 全国牧草品种审定委员会.中国牧草登记品种集(修订版)[M].北京:中国农业出版社,1999.

[7] 全国草品种审定委员会.中国审定登记草品种集[M].北京:中国农业出版社,2008.

[8] 毕玉芬,曹致中.苜蓿属植物遗传变异和分类的研究概况[J].甘肃农业大学学报,1999,34(2):101—105.

[9] 吕世杰.黄花苜蓿抗旱、耐盐生理特性及其抗性机理的初步研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2007.

[10] 余玲,王彦荣,Trevor G,等.紫花苜蓿不同品种对干旱胁迫的生理响应[J].草业学报,2006,15(3):75—85.

[11] 康俊梅,樊奋成,杨青川.41 份紫花苜蓿抗旱鉴定试验研究[J].草地学报,2004,12(1):21—24.

[12] 邹琦.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业出版社,2000.

[13] 龚明.作物抗旱性鉴定方法与指标及其综合评价[J].云南农业大学学报,1989,4(1):73—81.

[14] 霍红,张勇,陈年来,等.干旱胁迫下五种荒漠灌木苗期的生理响应和抗旱评价[J].干旱区资源与环境,2010,25(1):185—189.

[15] Mclord J M. Superoxide dismutase: An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein) [J]. Journal of Biological Chemistry, 1969,224:6049—6055.

[16] 赵世杰.植物组织中丙二醛测定方法的改进[J].植物生理学通讯,1994,30(3):207—210.

[17] 李吉跃.植物耐旱性及其机理[J].北京林业大学学报,1991,13(3):92—97.

[18] 李崇巍,贾志宽,林玲.几种苜蓿新品种抗旱性的初步研究[J].干旱地区农业研究,2002,20(4):21—25.

[19] 杨万勤,王开运,宋光煜,等.水分胁迫对赭红土和变形土生长

- 的玉米叶片[J].应用与环境生物学报,2003,9(6):588—593.
- [20] 王 赞,李 源,高洪文,等.鸭茅苗期抗旱性综合评价[J].干旱地区农业研究,2007,25(6):31—36.
- [21] 王绑锡,黄久常,王 辉.不同植物在水分胁迫条件下脯氨酸积累与抗旱性的关系[J].植物生理学报,1989,15(1):46—51.
- [22] 汪月霞,孙国荣,王建波,等.NaCO₃与NaCl胁迫下星星草幼苗叶绿体保护酶活性的比较[J].草业学报,2007,16(1):81—86.
- [23] Baek K H, Skinner D Z. Differential expression of manganese superoxide dismutase sequence variants in near isogenic lines of wheat during cold acclimation[J]. Plant Cell Rep,2006,25:223—230.
- [24] 陈 敏.直立型黄花苜蓿的研究[J].中国草地学报,1980,(3):38—42.
- [25] 王俊杰,云锦凤,吕世杰.黄花苜蓿种质的优良特性与利用价值[J].内蒙古农业大学学报,2008,29(1):215—219.
- [26] Jung L. Cold, drought and heat tolerance[M]. New York: New York Publication, 1972:165—209.
- [27] 宋淑明.甘肃省紫花苜蓿地方类型抗旱性的综合评判[J].草业学报,1998,7(2):74—80.
- [28] 周瑞莲,张承烈,金巨和.干旱胁迫下紫花苜蓿叶片含水量、质膜透性、SOD、CAT 活性变化与抗旱性关系研究[J].中国草地,1991,(2):20—24.

Physiological change of different root types of alfalfa under drought stress at seedling stage

NAN Li-li^{1,2}, SHI Shang-li^{1,2}, ZHU Xin-qiang^{1,2}, ZHAO Wen-han^{1,2},
HAN Lu^{1,2}, TIAN Chen-xia^{1,2}

(1. College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China;

2. Key Laboratory of Grassland Ecosystem of Ministry of Education/Sino - U. S. Centers for Grazing land Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The paper aimed to study the physiological mechanism of different root types of alfalfa to drought stress at seedling stage. It chose tap rooted, creeping rooted, and rhizomatous rooted materials of alfalfa with different drought resistance potted in pots as experimental samples. The results showed that the relative water content and chlorophyll content of alfalfa reduced with the increasing of drought stress degree, and tap rooted *M. sativa* L. cv. Longdong with strong drought-resistance was less than others. The content of soluble sugar, proline, malondialdehyde, and superoxide dismutase activity of alfalfa rose with increasing the degree of drought, and the soluble sugar content in rhizomatous rooted *M. sativa* L. cv. Qingshui and creeping rooted *M. varia* Martin. cv. Gannong No.2 increased more, the proline content and SOD activity in creeping rooted native *M. falcata* material increased more, The MDA content in tap rooted *M. sativa* L. cv. Longdong increased more. The orders of subordinate function values from strong to weak was creeping rooted native *M. falcata* material > tap rooted *M. sativa* L. cv. Longdong > rhizomatous rooted *M. sativa* L. cv. Qingshui > creeping rooted *M. varia* Martin. cv. Gannong No.2.

Keywords: Alfalfa; root type; physiological and biochemical; drought resistance