

DOI:10.11686/cyxb2025262

http://cyxb.magtech.com.cn

任孟雨, 王利群, 南丽丽, 等. 紫花苜蓿新品系对盐胁迫的响应. 草业学报, 2026, 35(6): 24—34.

REN Meng-yu, WANG Li-qun, NAN Li-li, *et al.* Responses of new alfalfa lines to salt stress. Acta Prataculturae Sinica, 2026, 35(6): 24—34.

紫花苜蓿新品系对盐胁迫的响应

任孟雨, 王利群, 南丽丽*, 郭佳雨

(甘肃农业大学草业学院, 草业生态系统教育部重点实验室, 农业农村部饲草种质与新品种选育重点实验室[部省共建], 甘肃兰州730070)

摘要:为探讨紫花苜蓿新品系在盐胁迫下的变化及响应机制,以5份苜蓿新品系(P₁、P₂、P₃、P₄、P₅)及中苜1号紫花苜蓿(ZM)为研究对象,在盐胁迫(200 mmol·L⁻¹ NaCl)下分别处理0(CK)、8与16 d后测定其开花期形态、生理等指标。结果表明:随盐胁迫时间的延长,供试苜蓿的株高、叶面积、地上生物量、地下生物量和地上部及地下部K⁺含量呈降低趋势。同时,盐胁迫也抑制了供试苜蓿根系的生长,根总长、根总表面积、根平均直径、根体积和根尖数均降低。而总黄酮含量,苯丙氨酸解氨酶、肉桂酸-4-羟基化酶、4-香豆酸辅酶A连接酶活性和地上部及地下部Na⁺含量均增加。主成分分析表明,地下部K⁺及Na⁺含量、根尖数、株高与叶面积可视为评估苜蓿开花期耐盐性的关键指标。隶属函数综合评价表明,供试苜蓿耐盐性排名为P₃>P₄>P₅>ZM>P₂>P₁。综上所述,P₃为耐盐胁迫品系,P₁为盐胁迫敏感品系。

关键词:紫花苜蓿;耐盐性;黄酮;苯丙氨酸解氨酶

Responses of new alfalfa lines to salt stress

REN Meng-yu, WANG Li-qun, NAN Li-li*, GUO Jia-yu

College of Pratacultural Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory of Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Key Laboratory of Forage Germplasm Innovation and New Variety Breeding of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Lanzhou 730070, China

Abstract: In this study, we explored the responses of five new alfalfa (*Medicago sativa*) lines (P₁, P₂, P₃, P₄, and P₅) and *M. sativa* cv. 'Zhongmu' No. 1 (ZM) to salt stress. The morphological and physiological parameters of alfalfa in the early flowering stage were measured at 0 (CK), 8, and 20 days under salt stress (200 mmol·L⁻¹ NaCl). The results show that with the extension of salt stress, there was increasing inhibition of plant height, leaf area, aboveground biomass, underground biomass, and K⁺ content of aboveground and underground parts of alfalfa plants. Salt stress also inhibited the growth of the root system of alfalfa plants, with negative effects on the total root length, total root surface area, average root diameter, root volume, and root tip number. The total flavonoid content and the activities of phenylalanine ammonia-lyase, cinnamic acid-4-hydroxylase, and 4-coumarate-coenzyme A ligase were increased under salt stress, as were the Na⁺ contents in the aboveground and underground parts. Principal component analysis revealed that underground K⁺ and Na⁺ contents, root tip number, plant height, and leaf area are the preferred indices for evaluating the salt tolerance of alfalfa at the early flowering stage. On the basis of a comprehensive evaluation with the membership function method, the *M. sativa* lines were ranked from most to least salt tolerant as follows: P₃>P₄>P₅>ZM>P₂>P₁. These findings provide a theoretical basis for breeding new salt-resistant alfalfa cultivars.

收稿日期:2025-06-26;改回日期:2025-07-21

基金项目:甘肃省重大专项(25ZDNA005)资助。

作者简介:任孟雨(2001—),男,河北邯郸人,在读硕士。E-mail: miss758250@qq.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: nanll@gsau.edu.cn

Key words: alfalfa; salt tolerance; flavones; phenylalanine ammonia-lyase

紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) 作为多年生优质豆科牧草, 具有生物固氮能力, 兼具适口性好、抗旱、抗寒、粗蛋白含量及干草产量高等优点, 被誉为“牧草之王”^[1]。土壤盐渍化是影响农业生产的主要限制性因子^[2], 在人口不断增长, 耕地逐渐减少的情况下, “端牢中国饭碗”的国家粮食安全战略则要求必须加大力度“向盐碱地要粮”^[3]。我国盐渍土面积为 $9.913 \times 10^7 \text{ hm}^2$, 约占国土面积的 1.03%^[4], 开发潜力巨大, 改良利用盐碱地对增加耕地后备资源、改善生态环境具有重要意义。

研究发现, 盐胁迫会导致渗透胁迫、离子毒害及营养失衡, 引起植株失水, 破坏细胞代谢, 影响苜蓿的正常生长发育, 造成苜蓿减产^[5]。Na⁺引起的离子毒性比渗透胁迫更容易对植物造成不可逆的损害^[6], 且植物体内 Na⁺与 K⁺存在显著的相互抑制作用, 当环境中 Na⁺含量升高时, 会显著干扰细胞膜上 K⁺转运蛋白的正常功能, 从而阻碍 K⁺的有效吸收^[7]。因此, 维持较高的 K⁺/Na⁺可以提高植物的耐盐性^[8]。次生代谢产物是植物为适应环境而产生的胁迫防御物质, 黄酮类化合物 (flavonoid) 广泛存在于植物界, 是一类重要的次生代谢物, 在植物的形态构建、器官的生长与发育和抵御外界环境胁迫等过程中起作用^[9]。苯丙氨酸解氨酶 (phenylalanine ammonia-lyase, PAL)、肉桂酸-4-羟基化酶 (cinnamic acid-4-hydroxylase, C4H) 和 4-香豆酸辅酶 A 连接酶 (4-coumarate-CoA ligase, 4CL) 是植物苯丙素代谢途径中的 3 个关键酶, 参与木质素、黄酮类等次生代谢产物的合成, 其活性变化与植物光合效率及对逆境的响应密切相关^[10]。

前人对苜蓿耐盐性的研究, 大多集中在萌发期和苗期^[11], 其研究已颇为丰富, 针对成株期的研究相对较少。本研究对苜蓿新品系成株期在不同盐胁迫天数下的形态、根系、离子和类黄酮含量进行差异分析, 为选育耐盐苜蓿品种提供优质材料, 亦为苜蓿抗逆育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试苜蓿包括育成品种中苜 1 号紫花苜蓿 (*M. sativa* cv. ‘Zhongmu’ No. 1, 简称 ZM) 及甘肃农业大学选育的 5 个紫花苜蓿新品系, 编号为 P₁、P₂、P₃、P₄、P₅。各品系杂交组合分别为 ‘7765’ × ‘中苜 1 号’ (P₁)、‘7470’ × ‘中苜 1 号’ (P₂)、‘7657’ × ‘中苜 1 号’ (P₃)、‘15578’ × ‘中苜 1 号’ (P₄)、‘7157’ × ‘中苜 1 号’ (P₅)。其中亲本材料 7765、7470、7657、15578、7157 由农业农村部全国畜牧兽医总站牧草种质资源搜集保护项目协作组从俄罗斯瓦维洛夫植物基因库引进; 另一亲本材料 ZM 具有较强的耐盐能力, 是耐盐苜蓿育种的优良亲本资源。

1.2 试验设计

试验于 2024 年在甘肃农业大学草业学院植物生长室进行。将苜蓿种子用 10% 次氯酸钠消毒, 经蒸馏水冲洗 2~3 次后, 均匀播种于高 12 cm, 半径 7 cm 的砂培塑料盆中, 覆沙 2 cm, 每份材料播种 8 盆。出苗后每盆挑选生长一致、分布均匀的 30 株幼苗, 每 2 d 浇灌 150 mL Hoagland 营养液 (大量元素: 四水硝酸钙 Ca(NO₃)₂·4H₂O, 945 mg·L⁻¹, 硝酸钾 KNO₃, 506 mg·L⁻¹, 硝酸铵 NH₄NO₃, 80 mg·L⁻¹, 磷酸二氢铵 NH₄H₂PO₄, 136 mg·L⁻¹, 七水硫酸镁 MgSO₄·7H₂O, 493 mg·L⁻¹。铁盐: 七水硫酸亚铁 FeSO₄·7H₂O, 2.78 mg·L⁻¹, 乙二胺四乙酸二钠 Na₂EDTA·2H₂O, 3.64 mg·L⁻¹。微量元素: 碘化钾 KI, 0.83 mg·L⁻¹, 硼酸 H₃BO₃, 6.2 mg·L⁻¹, 硫酸锰 MnSO₄·H₂O, 22.3 mg·L⁻¹, 硫酸锌 ZnSO₄·7H₂O, 8.6 mg·L⁻¹, 钼酸钠 Na₂MoO₄·2H₂O, 0.25 mg·L⁻¹, 硫酸铜 CuSO₄·5H₂O, 0.025 mg·L⁻¹, 氯化钴 CoCl₂·6H₂O, 0.025 mg·L⁻¹), 保证植株正常生长。待初花期时, 先用 100 mmol·L⁻¹ NaCl 处理 48 h, 再升至目标浓度 200 mmol·L⁻¹ NaCl (Hoagland 营养液成分与盐敏感浓度均由本团队前期筛选^[12]), 设置 0 (CK)、8、16 d 共 3 个胁迫处理时间, 胁迫结束后取样测定各指标, 每个处理 3 次重复。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 形态指标 株高采用卷尺测量; 叶面积、叶长和叶宽取植株顶端依次向下数的第 3 个叶片, 采用 LI-3000C 叶面积仪 (LI-COR, 美国) 分别测定; 地上、地下干重采用称重法测量^[12], 并计算根冠比 (地下干重/地上干

重);用台式扫描仪(Epson Expression 1200XL,中国上海)对各苜蓿根系进行扫描,后用根系分析系统软件(WinRHIZO 2003)对根系图像进行分析,可得根总长、根总表面积、根体积、根尖数等根系参数。设置10次重复。

1.3.2 生理指标 总黄酮含量参考许英一等^[13]的超声波辅助乙醇提取法测定;苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性参照徐友^[14]的方法测定;肉桂酸-4-羟基化酶(C4H)活性参照Lamb等^[15]的方法测定;4-香豆酸辅酶A连接酶(4CL)活性参照Knobloch等^[16]的方法测定。 K^+ 、 Na^+ 含量采用火焰光度计法^[17]测定。设置3次重复。

1.4 数据统计分析

利用Excel 2019进行数据整理,Origin 2024软件绘图,采用SPSS 25进行数据分析,通过隶属函数对供试苜蓿进行耐盐性综合评价。

$$\text{与盐胁迫呈正相关时, } F_{ij}(X_i) = (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$$

$$\text{与盐胁迫呈负相关时, } F_{ij}(X_i) = 1 - (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$$

式中: X_i 表示第*i*个指标的平均值; $F_{ij}(X_i)$ 表示第*i*个指标的隶属函数值; X_{\max} 值为所有材料平均数据的最高值; X_{\min} 值为所有材料平均数据的最低值。

$$\text{各指标的权重: } W_j = P_i / P_i, i=1, 2, 3, \dots, n$$

与盐胁迫呈正相关时, $P_i = C_i / S_i$;与盐胁迫呈负相关时, $P_i = S_i / C_i$ 。式中: P_i 为处理值与对照组的比值; C_i 为对照组第*i*个指标的平均值; S_i 为盐处理组第*i*个测定指标的平均值。

$$\text{耐盐性综合评价值}^{[18]} D = \sum_{i=1}^n [F_{ij}(X_i) \times W_j], D \text{ 值越大,耐盐性越强。}$$

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对苜蓿新品系生长的影响

苜蓿新品系株高、叶面积、叶长、叶宽、地上干重、地下干重及根冠比(图1和图2)均随盐胁迫时间的延长而显著下降($P < 0.05$),与0 d相比, P_1, P_2, P_3, P_4, P_5 和ZM的各指标在胁迫16 d时的降幅分别为2.90%~8.50%、3.40%~13.60%、1.00%~8.20%、1.90%~11.30%、11.70%~45.90%、34.30%~65.90%和11.80%~49.40%。其中 P_1 的株高、叶面积及地上干重降幅最大;ZM的叶面积、叶长、地上干重降幅最小,表明其受胁迫影响较小。与0 d相比, P_1, P_2, P_3, P_4, P_5 和ZM在16 d时的降幅分别为3.96%~57.58%、1.50%~34.26%、1.87%~52.41%、3.64%~38.94%、2.04%~65.81%和1.02%~50.00%。

2.2 盐胁迫对苜蓿新品系根系参数的影响

苜蓿新品系的根总长度、根总表面积、根平均直径、根体积和根尖数(图3)均随盐胁迫时间的延长而显著降低($P < 0.05$),其中胁迫16 d时较0 d降幅分别为8.60%~31.50%、1.10%~21.90%、2.90%~37.00%、5.00%~53.90%和15.50%~36.80%。其中 P_1 的根平均直径和根体积、 P_2 的根总长度和根尖数以及 P_4 的根总表面积降幅最大, P_1 的根总长度、 P_3 的根体积和根尖数以及 P_5 的根总表面积和根平均直径降幅最小。与0 d相比, P_1, P_2, P_3, P_4, P_5 和ZM在16 d时的降幅分别为1.60%~53.85%、12.16%~38.89%、5.00%~19.27%、15.00%~33.99%、1.08%~26.14%和12.20%~29.17%。

2.3 盐胁迫对苜蓿类黄酮及其关键酶活性的影响

随着盐胁迫时间的延长,苜蓿新品系的总黄酮含量、PAL、C4H和4CL活性(图4)显著增加($P < 0.05$)。胁迫16 d时, P_1, P_2, P_3, P_4, P_5 和ZM的总黄酮含量较0 d分别增加了2.14%、3.20%、4.17%、5.93%、11.72%和2.98%,其中 P_5 的总黄酮含量最高,为 $5.22 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,而材料ZM的总黄酮含量最低,为 $4.76 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。与0 d相比,6份苜蓿的PAL活性在胁迫16 d时分别增加了35.77%、6.91%、5.03%、8.77%、8.41%和9.55%, P_1 的PAL活性显著高于其他材料($P < 0.05$)。与0 d相比, P_1, P_2, P_3, P_4, P_5 和ZM的C4H和4CL活性在胁迫16 d时增幅为13.89%~72.15%和14.75%~152.41%,其中 P_4 的C4H与4CL活性最高,增幅也最大,为 $165.16 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ (72.15%)和 $153.49 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ (152.41%);ZM增幅最小,仅为13.89%和14.75%,可见在盐胁迫下,苜蓿能通过合成黄酮以及提高其关键酶的活性来抵御胁迫。

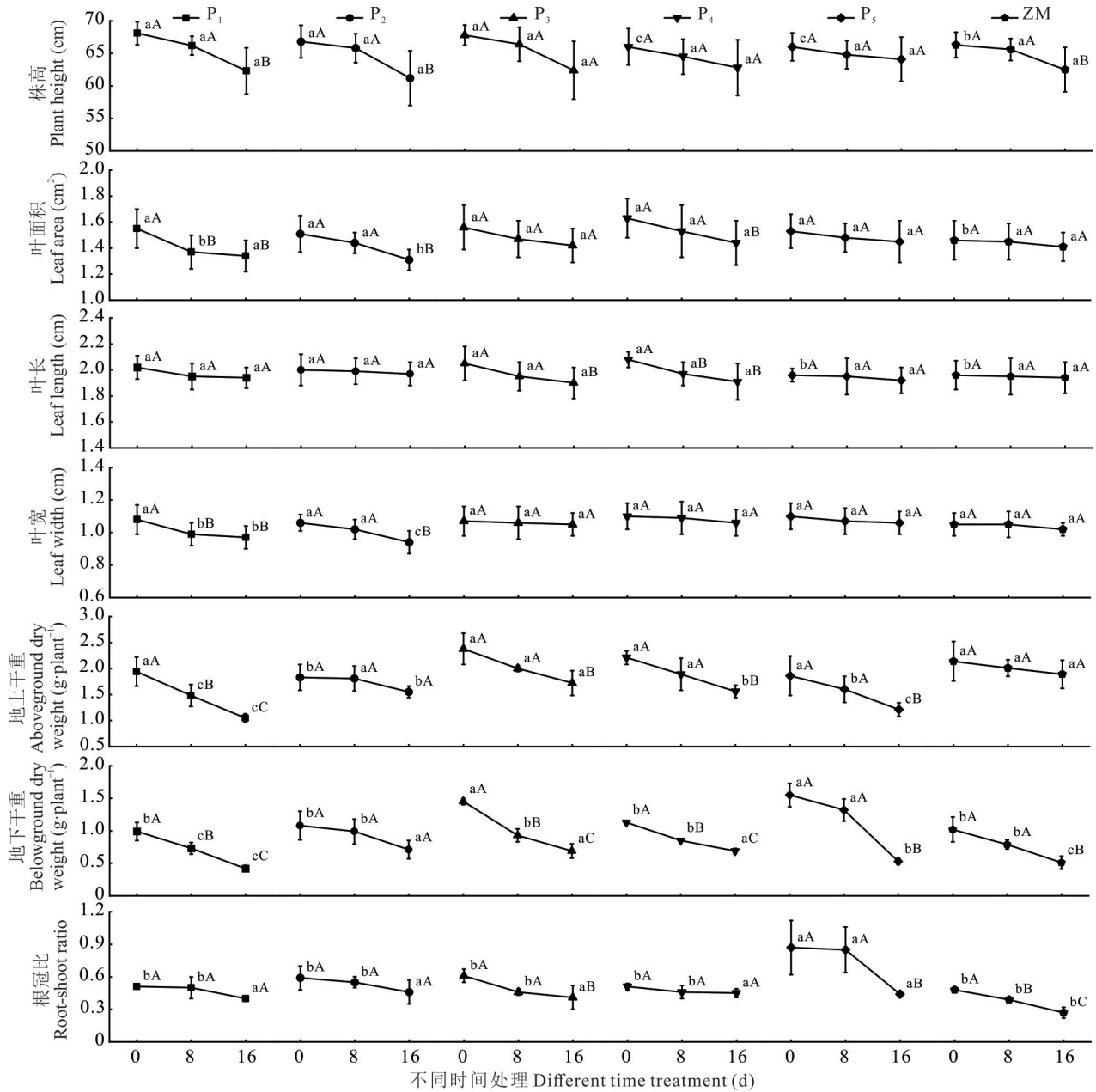


图 1 盐胁迫下苜蓿新品系形态指标变化

Fig. 1 Changes of morphological indexes of new alfalfa lines under salt stress

不同小写字母表示同一时间处理下各苜蓿种质间差异显著 ($P < 0.05$); 不同大写字母表示相同苜蓿种质在不同时间处理下差异显著 ($P < 0.05$)。下同。The lowercase letters indicate significant differences among different alfalfa germplasm under the same time treatment ($P < 0.05$), and different capital letters indicate significant differences in alfalfa germplasm under different time treatments ($P < 0.05$). The same below.

2.4 盐胁迫对苜蓿离子含量的影响

各苜蓿材料地上部分与地下部分的 K^+ 含量 (图 5) 随胁迫时间的延长呈降低趋势 ($P < 0.05$), 且地上部分 K^+ 含量高于地下部分。与 0 d 相比, 在胁迫 8 和 16 d 时, P_4 的地上部分 K^+ 含量降幅均最大, 为 32.63% 和 33.48%, 而 P_2 在胁迫 8 d 时降幅最小, 仅为 1.69%, P_3 在胁迫 16 d 时降幅最小, 为 11.57%; 与 0 d 相比, P_3 在胁迫 8 和 16 d 时, 地下部分 K^+ 含量降幅均最大, 分别为 56.64% 和 80.18%, 而 P_5 在胁迫 8 d 时降幅较小, ZM 在胁迫 16 d 时降幅均小于其他材料。供试苜蓿地上与地下部 Na^+ 含量随着胁迫天数的延长显著增加 ($P < 0.05$), 增幅分别为 400.15%~1599.38% 和 354.67%~1980.55%。与 0 d 相比, 在胁迫 8 和 16 d 时地上部 Na^+ 含量为 P_2 和 ZM 增幅最大, 分别增加了 1133.26% 和 1599.38%, 而在胁迫 8 和 16 d 时地下部 Na^+ 含量 P_4 增幅最大, P_3 和 P_2 增幅最小。盐胁迫下供试苜蓿 Na^+ 含量均表现为地下部大于地上部。

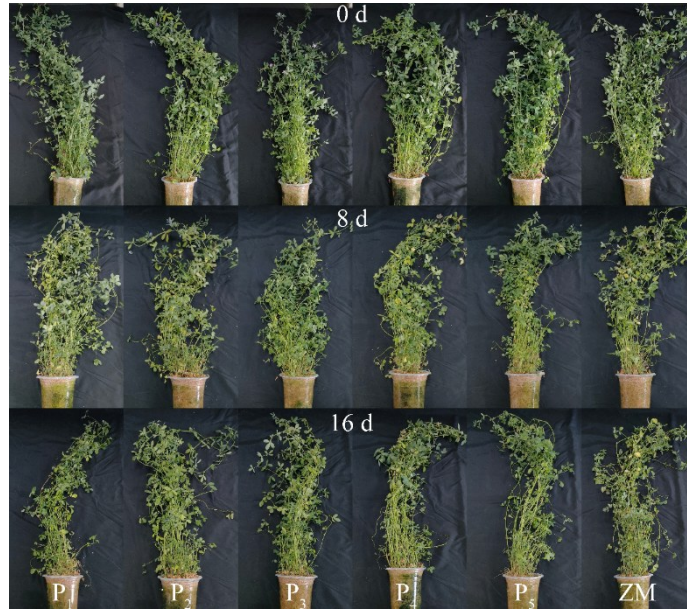


图2 盐胁迫下供试苜蓿的生长状况

Fig. 2 Growth status of tested alfalfa under salt stress

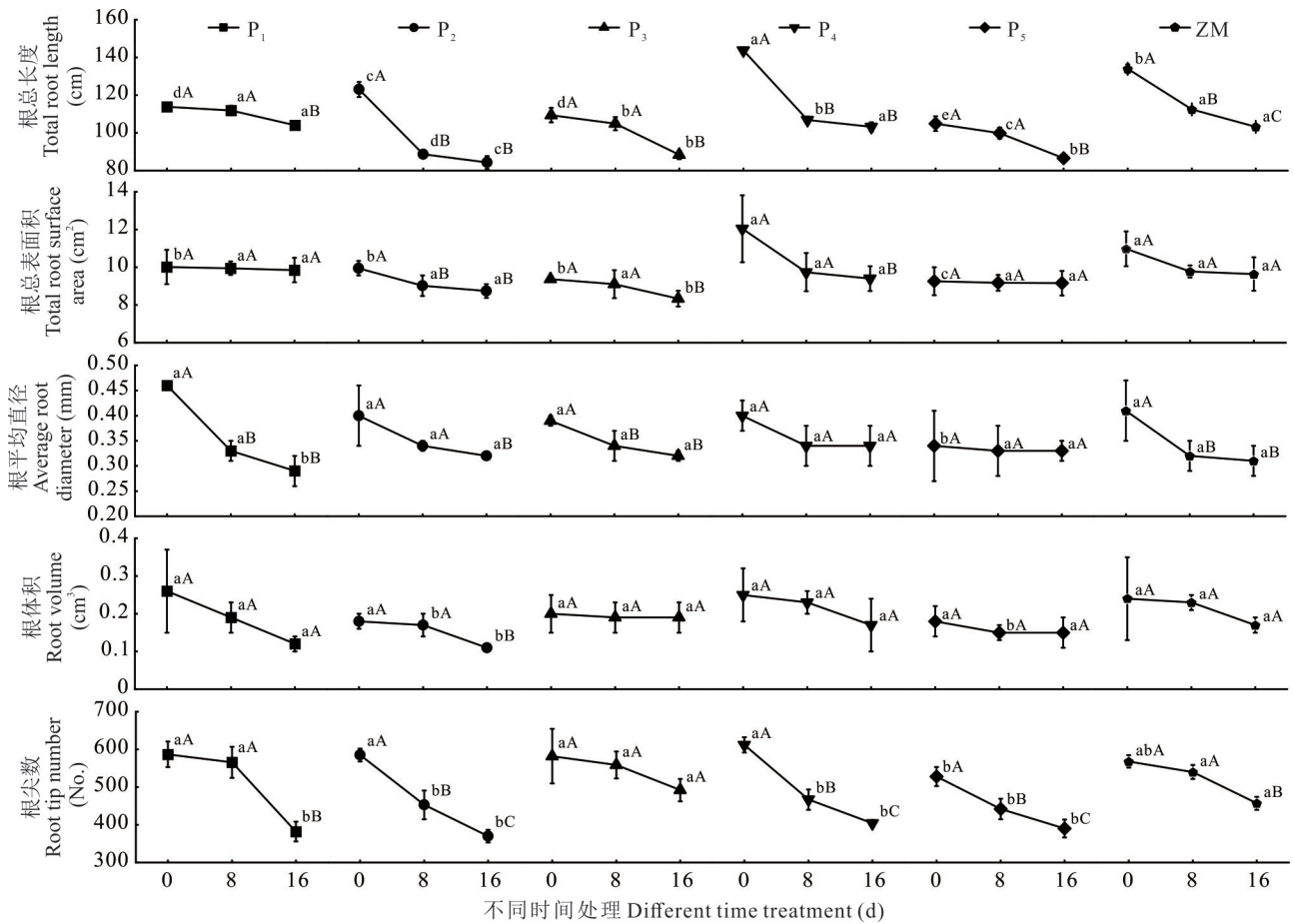


图3 盐胁迫下苜蓿新品系根系参数的变化

Fig. 3 Changes of root parameters of new alfalfa lines under salt stress

2.5 主成分分析

通过主成分分析(表1)提取了4个特征值大于1的主成分,其特征值分别为11.964、2.185、1.420和1.045,贡

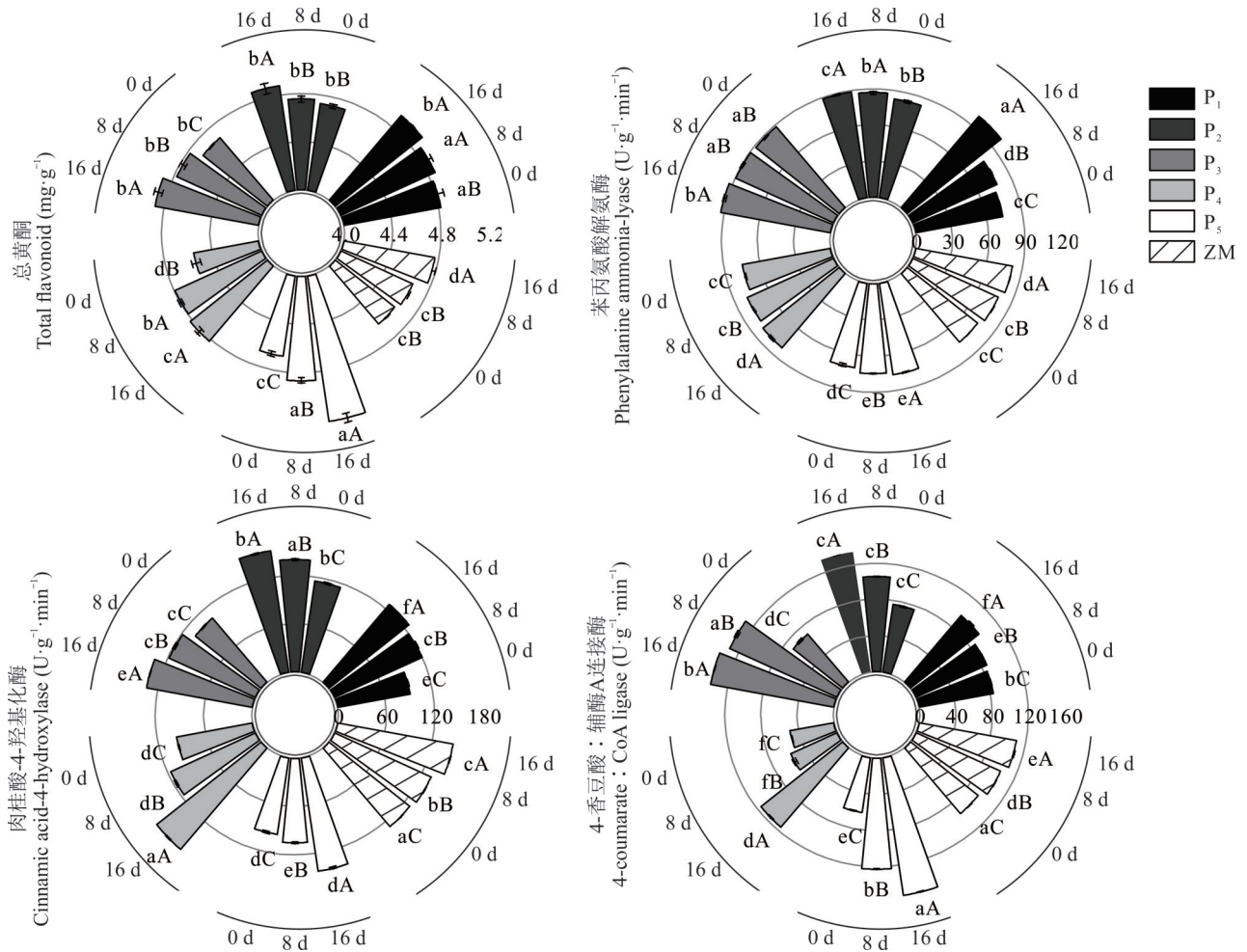


图 4 盐胁迫下不同苜蓿材料的总黄酮含量及其关键酶活性

Fig. 4 Total flavonoid content and its key enzymes activity of different alfalfa materials under salt stress

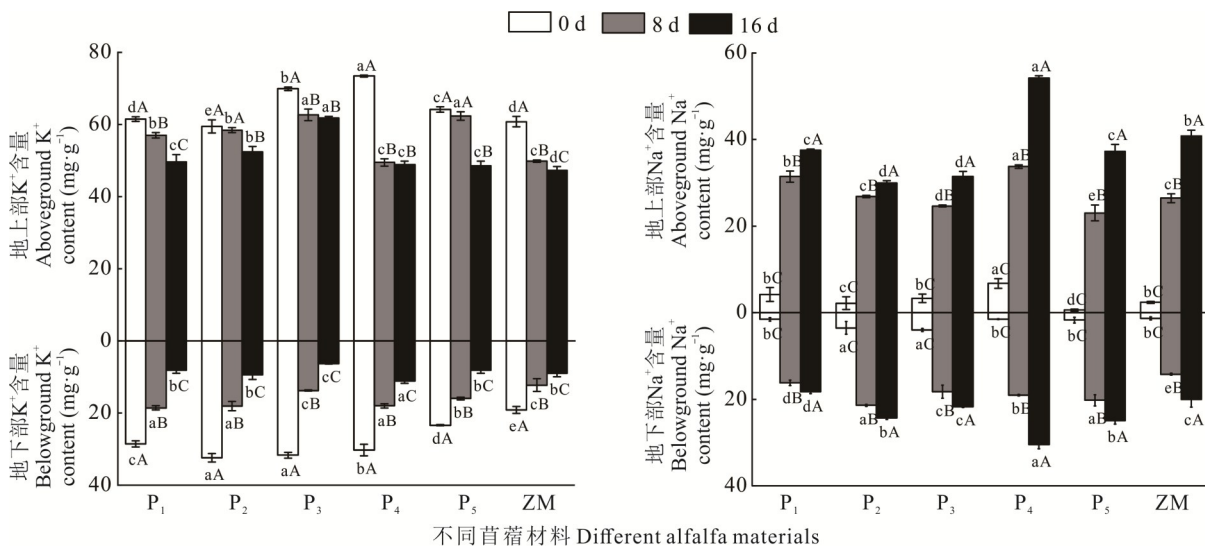


图 5 盐胁迫对苜蓿钾离子和钠离子含量变化的影响

Fig. 5 Effects of salt stress on the change of potassium ion and sodium ion content in alfalfa

献率分别为 59.819%、10.927%、7.101% 和 5.226%，累积贡献率达 83.073%。其中，第 1 主成分对应较大的特征向量是地下 K^+ 、 Na^+ 含量和根尖数；第 2 主成分对应较大的特征向量为根冠比和根总表面积；第 3 主成分载荷较

高的因子是叶宽和PAL;第4主成分对应较大的特征向量是地上干重。由于第1主成分的贡献率超过总贡献率的1/2,因此,地下K⁺及Na⁺含量、根尖数、株高与叶面积可视为评估苜蓿开花期耐盐性的关键指标。

表1 各因子载荷矩阵和累积贡献率

Table 1 Matrix of factor loading and cumulative contribution rate

指标 Index	主成分 Principal component			
	1	2	3	4
株高 Plant height	0.844	0.102	0.067	0.061
叶面积 Leaf area	0.861	0.081	0.315	0.098
叶长 Leaf length	0.792	-0.066	-0.350	-0.079
叶宽 Leaf width	0.670	0.166	0.609	0.181
地上干重 Aboveground dry weight	0.774	-0.148	-0.038	0.537
地下干重 Belowground dry weight	0.775	0.565	-0.041	0.077
根冠比 Root-shoot ratio	0.449	0.812	0.042	-0.246
总黄酮 Total flavonoid	-0.719	0.246	0.247	-0.242
苯丙氨酸解氨酶 Phenylalanine ammonia-lyase (PAL)	-0.516	-0.035	-0.665	0.303
肉桂酸-4-羟基化酶 Cinnamic acid-4-hydroxylase (C4H)	-0.814	-0.284	0.036	0.189
4-香豆酸辅酶A连接酶 4-coumarate CoA ligase (4CL)	-0.761	0.169	0.133	0.282
地上部K ⁺ 含量 Aboveground K ⁺ content	0.775	0.311	-0.256	0.172
地下部K ⁺ 含量 Belowground K ⁺ content	0.916	0.097	-0.157	-0.127
地上部Na ⁺ 含量 Aboveground Na ⁺ content	-0.874	-0.203	0.227	0.032
地下部Na ⁺ 含量 Belowground Na ⁺ content	-0.905	0.046	0.177	0.138
根总长 Total root length	0.775	-0.495	-0.019	-0.222
根总表面积 Total root surface area	0.625	-0.597	0.011	-0.407
根平均直径 Average root diameter	0.807	-0.114	0.058	0.008
根体积 Root volume	0.756	-0.416	0.341	0.234
根尖数 Root tip numbers	0.877	-0.171	-0.053	0.193
特征值 Eigenvalue	11.964	2.185	1.420	1.045
贡献率 Contributive rate (%)	59.819	10.927	7.101	5.226
累积贡献率 Cumulative contributive rate (%)	59.819	70.746	77.847	83.073

2.6 苜蓿耐盐性综合评价

利用隶属函数法(表2)对供试苜蓿形态、根系参数及生理指标进行综合评价,计算耐盐综合评价D值并根据D值大小对其耐盐性进行排序。新品系耐盐性由强到弱依次表现为:P₃>P₄>P₅>ZM>P₂>P₁。

3 讨论

3.1 苜蓿根系形态对盐胁迫的响应

根系形态特征在逆境下的动态调整能直观映射出植物对盐碱环境的响应机制^[19]。郝统等^[20]研究表明,当植物遭受不同强度的盐胁迫时,根长、根表面积、根体积及根平均直径均下降,且胁迫程度越高,其衰减幅度愈加明显。本研究中,盐胁迫使苜蓿的根总长、根总表面积、根平均直径、根体积和根尖数均显著下降($P<0.05$),且随胁迫时间的延长下降幅度不断增大,这与其研究结果一致。可见,盐胁迫显著抑制了苜蓿根系的正常发育,干扰了根系对养分和气体的吸收运输功能,导致叶片光合作用效率下降,进而阻碍了植株生物量的有效积累^[21]。此

表 2 供试苜蓿隶属值、权重、D 值及排序

Table 2 Membership value, weight, D value and ranking of tested alfalfa

指标 Index	P ₁		P ₂		P ₃		P ₄		P ₅		ZM	
	<i>F_{ij}</i>	<i>W_{ij}</i>	<i>F_{ij}</i>	<i>W_{ij}</i>	<i>F_{ij}</i>	<i>W_{ij}</i>	<i>F_{ij}</i>	<i>W_{ij}</i>	<i>F_{ij}</i>	<i>W_{ij}</i>	<i>F_{ij}</i>	<i>W_{ij}</i>
L ₁	0.447	0.052	0.330	0.054	0.470	0.050	0.359	0.053	0.473	0.054	0.418	0.054
L ₂	0.133	0.056	0.202	0.056	0.411	0.053	0.545	0.056	0.480	0.055	0.371	0.053
L ₃	0.160	0.075	0.475	0.056	0.610	0.062	0.507	0.066	0.267	0.070	0.677	0.057
L ₄	0.138	0.087	0.383	0.066	0.345	0.088	0.311	0.075	0.450	0.103	0.205	0.084
L ₅	0.296	0.055	0.387	0.060	0.275	0.068	0.298	0.058	0.622	0.076	0.099	0.076
L ₆	0.509	0.048	0.399	0.051	0.412	0.048	0.383	0.048	0.735	0.049	0.244	0.051
L ₇	0.609	0.042	0.592	0.049	0.699	0.048	0.316	0.047	0.172	0.050	0.318	0.049
L ₈	0.429	0.036	0.741	0.041	0.464	0.041	0.665	0.036	0.434	0.043	0.644	0.048
L ₉	0.400	0.045	0.673	0.033	0.815	0.026	0.349	0.034	0.852	0.024	0.542	0.047
L ₁₀	0.232	0.056	0.311	0.055	0.572	0.055	0.073	0.076	0.314	0.061	0.049	0.065
L ₁₁	0.633	0.006	0.519	0.004	0.513	0.006	0.809	0.008	0.551	0.001	0.617	0.004
L ₁₂	0.271	0.117	0.285	0.131	0.143	0.173	0.315	0.111	0.220	0.111	0.165	0.095
L ₁₃	0.545	0.004	0.739	0.008	0.640	0.010	0.804	0.003	0.729	0.004	0.543	0.004
L ₁₄	0.398	0.051	0.037	0.073	0.207	0.055	0.348	0.070	0.150	0.059	0.395	0.065
L ₁₅	0.423	0.049	0.148	0.058	0.104	0.053	0.333	0.064	0.226	0.053	0.372	0.059
L ₁₆	0.119	0.073	0.247	0.062	0.249	0.057	0.323	0.059	0.246	0.056	0.145	0.068
L ₁₇	0.295	0.086	0.203	0.070	0.537	0.052	0.601	0.064	0.288	0.063	0.600	0.062
L ₁₈	0.429	0.061	0.172	0.073	0.642	0.054	0.271	0.072	0.189	0.067	0.530	0.059
D 值 D value	0.307		0.322		0.385		0.365		0.361		0.340	
排序 Order	6		5		1		2		3		4	

注: L₁: 株高; L₂: 叶面积; L₃: 地上干重; L₄: 地下干重; L₅: 根冠比; L₆: 总黄酮; L₇: 苯丙氨酸解氨酶; L₈: 肉桂酸-4-羟化酶; L₉: 4-香豆酸辅酶 A 连接酶; L₁₀: 地上部 K⁺ 含量; L₁₁: 地上部 Na⁺ 含量; L₁₂: 地下部 K⁺ 含量; L₁₃: 地下部 Na⁺ 含量; L₁₄: 根总长; L₁₅: 根总表面积; L₁₆: 根平均直径; L₁₇: 根体积; L₁₈: 根尖数。

Note: L₁: Plant height; L₂: Leaf area; L₃: Aboveground dry weight; L₄: Belowground dry weight; L₅: Root-shoot ratio; L₆: Total flavonoid; L₇: Phenylalanine ammonia-lyase; L₈: Cinnamic acid 4-hydroxylase; L₉: 4-coumarate CoA ligase; L₁₀: Aboveground K⁺ content; L₁₁: Aboveground Na⁺ content; L₁₂: Belowground K⁺ content; L₁₃: Belowground Na⁺ content; L₁₄: Total root length; L₁₅: Total root surface area; L₁₆: Average root diameter; L₁₇: Root volume; L₁₈: Root tip numbers.

外,根系形态对盐胁迫的响应可能受到多层次的分子调控。已有研究表明,盐胁迫能够诱导植物细胞中与组蛋白乙酰化相关的细胞壁基因高度表达,进而调控根系伸长区细胞的横向膨大与径向生长,最终缓解盐胁迫对根系的伸长抑制及生理损伤^[22]。

3.2 苜蓿黄酮代谢对盐胁迫的响应

黄酮类化合物作为植物次生代谢产物的核心成分之一,拥有强大的抗氧化性,可清除植物体内的活性氧自由基,在增强植物抗逆性方面发挥着关键的调控作用^[23]。研究表明,盐胁迫可诱导植株 PAL、4CL 和 C4H 等黄酮类关键酶的合成,积累黄酮类化合物,进而缓解盐胁迫导致的氧化损伤^[24]。Qin 等^[25]的研究表明,盐胁迫下宁夏枸杞 (*Lycium barbarum*) 中的黄酮类化合物含量显著增加。袁斌玲等^[26]的研究表明,NaCl 处理在一定程度上可激活金叶银杏 (*Ginkgo biloba* ‘Golden leaves’) 的 PAL、4CL 活性,有利于黄酮类化合物的合成,缓解盐胁迫造成的氧化胁迫,增强植株的抗盐能力。本研究中,随着盐胁迫时间的延长,供试苜蓿总黄酮含量, PAL、C4H 和 4CL 活性均显著增加 ($P < 0.05$)。其中, P₁ 的类黄酮积累对盐胁迫不敏感,增幅最小,说明类黄酮应对盐胁迫的敏感性

与苜蓿种质的耐盐性密切相关,这与董明等^[27]在高粱(*Sorghum bicolor*)中的研究结果一致。从分子调控视角看,黄酮合成关键酶的活性升高可能源于转录水平调控。Peel等^[28]在蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)中发现了一个MYB型的转录基因LAP1,能够激活花青素代谢途径中的DFR和ANS等基因,特异性地调控苜蓿花青素的生物合成。

3.3 盐胁迫对苜蓿离子动态变化的影响

盐胁迫可破坏植物细胞的离子稳态并影响Na⁺和K⁺在细胞中的分布^[29],因此,调节细胞质中离子平衡对于植物细胞生理代谢与盐胁迫适应至关重要。盐胁迫下不同植物响应和适应的离子代谢特征有所差异,对植物组织表现出不同的影响。因Na⁺和K⁺有相似的离子半径和水合能,故二者间会相互竞争转运体的同一结合位,导致植株K⁺缺失^[30]。本研究中,盐胁迫下苜蓿地下部和地上部的Na⁺含量均上升并随胁迫时间的延长而增大,且地上部Na⁺积累量明显高于地下部,表明苜蓿地上部积累了大量Na⁺并限制其向根部转运,维持地上部器官离子稳态,保障光合生理的正常运作,维持相对正常的生命活动^[31];苜蓿地下部和地上部的K⁺含量均下降,且地下部K⁺降幅显著大于地上部。这是由于K⁺和Na⁺间有竞争,而苜蓿根部积累了大量的Na⁺,使其地下部K⁺严重亏缺,这与时丽冉等^[32]的研究结果一致。可见苜蓿能通过自身的调节机制减少根系吸收的Na⁺向地上部的运输,并维持地上部K⁺含量来抵御盐胁迫。此外,苜蓿离子分配的调控机制可能涉及质膜上多个转运蛋白的协同作用^[33]。本研究中地下部Na⁺滞留,可能与质膜Na⁺/H⁺逆向转运蛋白SOS1介导Na⁺从细胞质向根际外排,并阻止Na⁺从根系运输到地上部有关^[34]。K⁺的竞争性吸收则可能受HAK5钾通道基因表达下调的影响^[35]。苜蓿通过根系形态调整、黄酮代谢重构和离子动态平衡三者协同响应盐胁迫。上述生理表型背后可能存在共同的分子开关,后续研究可利用组学技术(如转录组、代谢组),在揭示耐盐相关基因-蛋白-代谢物调控网络的基础上,进一步阐明苜蓿耐盐性的分子设计育种路径。

4 结论

盐胁迫显著抑制苜蓿新品系开花期的形态及根系生长;苜蓿通过增加总黄酮及其关键酶(PAL、C4H、4CL)活性以缓解盐胁迫;盐胁迫破坏了苜蓿的离子平衡,其体内积累了更多的Na⁺,抑制了K⁺的吸收。利用隶属函数法分析得出耐盐性表现为P₃>P₄>P₅>ZM>P₂>P₁。利用主成分分析筛选出地下部K⁺、Na⁺含量、根尖数、株高与叶面积可作为苜蓿开花期耐盐性评价的首选指标。P₃、P₄和P₅的耐盐性较强,可作为苜蓿耐盐新品种选育的优异材料。

参考文献 References:

- [1] Xia J, Nan L L, Chen J, *et al.* Effects of low phosphorus stress on photosynthetic and chlorophyll fluorescence characteristics of alfalfa with different root types. *Chinese Journal of Grassland*, 2023, 45(10): 58–67.
夏静, 南丽丽, 陈洁, 等. 低磷胁迫下不同根型苜蓿形态及生理响应. *中国草地学报*, 2023, 45(10): 58–67.
- [2] Li M, Zhang J H. Effects of different fertilization patterns on the bacterial community dynamic in saline-alkali paddy soil. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2018, 36(5): 142–148.
李明, 张俊华. 不同施肥模式对盐碱化稻作土壤细菌群落的影响. *干旱地区农业研究*, 2018, 36(5): 142–148.
- [3] Li W Y, Wang H F, Zheng W, *et al.* Effect of exogenous calcium on growth and development of *Taxus wallichiana* var. *mairei* under saline-alkali and drought cross stress. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 2025, 39(6): 175–185.
李文杨, 王慧芳, 郑伟, 等. 外源钙对盐碱干旱交叉胁迫下红豆杉生长发育的影响. *干旱区资源与环境*, 2025, 39(6): 175–185.
- [4] Guo L N, Lu L, Dong X R, *et al.* Effects of gibberellic acid, kinetin and indole butyric acid mixture on sorghum salinity tolerance and grain yield in saline-alkali coastal zone. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2023, 34(9): 2405–2412.
郭丽娜, 卢霖, 董学瑞, 等. 赤霉素、激动素和吲哚丁酸混合剂对滨海盐碱区粒用高粱耐盐性和产量的影响. *应用生态学报*, 2023, 34(9): 2405–2412.
- [5] Bhattarai S, Biswas D, Fu Y B, *et al.* Morphological, physiological, and genetic responses to salt stress in alfalfa: a review. *Agronomy*, 2020, 10(4): 577.

- [6] Ali M, Afzal S, Parveen A, *et al.* Silicon mediated improvement in the growth and ion homeostasis by decreasing Na⁺ uptake in maize (*Zea mays* L.) cultivars exposed to salinity stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2021, 158: 208–218.
- [7] Zelm E V, Zhang Y X, Testerink C. Salt tolerance mechanisms of plants. *Annual Review of Plant Biology*, 2020, 71: 403–433.
- [8] Zhao S S, Zhang Q K, Liu M Y, *et al.* Regulation of plant responses to salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(9): 4609.
- [9] Li S, Sun L L, Bai L L, *et al.* Flavonoid is associated with salt stress tolerance in *Atriplex centralasiatica* seedlings. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2017, 25(9): 1345–1350.
李爽, 孙亮亮, 白丽丽, 等. 类黄酮参与调控中亚滨藜幼苗对盐胁迫的耐受性. *中国生态农业学报*, 2017, 25(9): 1345–1350.
- [10] Jiang M, Pan Y, Yu K C, *et al.* Metabolic profiling and gene expression analyses shed light on the cold adaptation mechanisms of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. *Scientific Reports*, 2025, 15(1): 7070.
- [11] Zhu K, Liu H J, Feng C L, *et al.* Comprehensive evaluation on the salt tolerance of seed germination of different alfalfa varieties under salt stress. *Acta Agrestia Sinica*, 2023, 31(12): 3724–3733.
朱琨, 刘骅峻, 冯成龙, 等. 盐胁迫对不同苜蓿品种种子萌发的耐盐性综合评价. *草地学报*, 2023, 31(12): 3724–3733.
- [12] Wang L Q, Nan L L, Ma X X, *et al.* Comprehensive evaluation of salt tolerance of 30 alfalfa germplasms at seedling stage. *Chinese Journal of Grassland*, 2025, 47(7): 70–82.
王利群, 南丽丽, 马香香, 等. 30份苜蓿种质苗期耐盐性综合评价. *中国草地学报*, 2025, 47(7): 70–82.
- [13] Xu Y Y, Wang Y, Yang W G. Extraction process and antioxidant activity of total flavonoids from alfalfa leaf. *Acta Agrestia Sinica*, 2018, 26(3): 757–763.
许英一, 王宇, 杨伟光. 紫花苜蓿叶总黄酮提取及抗氧化性. *草地学报*, 2018, 26(3): 757–763.
- [14] Xu Y. Effects of temperature and light intensity on growth and secondary metabolites biosynthesis of ginkgo (*Ginkgo biloba* L.) leaves. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2016.
徐友. 温度和光强对银杏生长和次生代谢产物合成的影响. 南京: 南京林业大学, 2016.
- [15] Lamb C J, Rubery P H. A spectrophotometric assay for trans-cinnamic acid 4-hydroxylase activity. *Analytical Biochemistry*, 1975, 68(2): 554–561.
- [16] Knobloch K H, Hahlbrock K. 4-coumarate: CoA ligase from cell suspension cultures of *Petroselinum hortense* Hoffm: Partial purification, substrate specificity, and further properties. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1977, 184(1): 237–248.
- [17] Liu X, Wang K, Liang P F, *et al.* Screening and comprehensive evaluation of salt tolerant germplasm of sainfoin at seedling stage. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 35(9): 2171–2179.
刘鑫, 汪堃, 梁鹏飞, 等. 红豆草苗期耐盐种质筛选及综合评价. *西南农业学报*, 2022, 35(9): 2171–2179.
- [18] He H P, Nan L L, Ma B, *et al.* Screening and evaluation of seedling stage cold tolerance in different sainfoin varieties. *Chinese Journal of Grassland*, 2023, 45(5): 41–49.
何海鹏, 南丽丽, 马彪, 等. 红豆草种质苗期耐寒性筛选及评价. *中国草地学报*, 2023, 45(5): 41–49.
- [19] Mao S, Zhou W L, Yang F, *et al.* Research progress on mechanism of plant roots response to salt-alkali stress. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2021, 33(10): 1991–2000.
毛爽, 周万里, 杨帆, 等. 植物根系应答盐碱胁迫机理研究进展. *浙江农业学报*, 2021, 33(10): 1991–2000.
- [20] Hao T, Zhao J Z, Du W J, *et al.* Effect of new modifiers on soybean germination under alkali stress. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2019, 47(4): 548–552.
郝统, 赵晋忠, 杜维俊, 等. 新型改良剂对碱胁迫下大豆萌发的影响. *山西农业科学*, 2019, 47(4): 548–552.
- [21] Chen F Y, Gu Y B, Bai J S, *et al.* Effects of flooding and salt stress on the growth of *Zizania latifolia*. *Chinese Journal of Ecology*, 2020, 39(5): 1484–1491.
陈方圆, 古勇波, 白江珊, 等. 淹水和盐胁迫对湿地植物菰生长的影响. *生态学杂志*, 2020, 39(5): 1484–1491.
- [22] Zhang Q Y, Ma L, Xu H, *et al.* Mechanism of lignin content in root system affecting salt tolerance in maize. *Current Biotechnology*, 2025, 15(1): 67–77.
张青云, 马蕾, 胥华, 等. 根系木质素含量影响玉米耐盐性的机制研究. *生物技术进展*, 2025, 15(1): 67–77.
- [23] Agati G, Azzarello E, Pollastri S, *et al.* Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Science*, 2012, 196: 67–76.
- [24] Zhang Q G, Zheng Q, Wang J, *et al.* Molecular mechanisms of flavonoid accumulation in germinating common bean (*Phaseolus*

- vulgaris*) under salt stress. *Frontiers in Nutrition*, 2022(9): 928805.
- [25] Qin X Y, Yin Y, Zhao J H, *et al.* Metabolomic and transcriptomic analysis of *Lycium chinense* and *L. ruthenicum* under salinity stress. *BMC Plant Biology*, 2022, 22(1): 8.
- [26] Yuan B L, Wang R M, Chen Y, *et al.* The regulation of methyl jasmonate on photosynthetic pigments, antioxidation and flavonoid metabolism in golden-leaf *Ginkgo biloba* seedlings under salinity treatment. *Journal of Northwest Forestry University*, 2020, 35(2): 64–71.
袁斌玲, 王瑞敏, 陈颖, 等. NaCl处理下茉莉酸甲酯对金叶银杏光合色素、抗氧化性及黄酮代谢的调控作用. *西北林学院学报*, 2020, 35(2): 64–71.
- [27] Dong M, Zaituniguli K, Lv P, *et al.* Transcriptome analysis and gene mining of salt tolerance in sorghum seedlings (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(22): 3987–4001.
董明, 再吐尼古丽·库尔班, 吕芑, 等. 高粱苗期耐盐性转录组分析和基因挖掘. *中国农业科学*, 2019, 52(22): 3987–4001.
- [28] Peel G J, Pang Y, Modolo L V, *et al.* The LAPI MYB transcription factor orchestrates anthocyanidin biosynthesis and glycosylation in *Medicago*. *The Plant Journal*, 2009, 59(1): 136–149.
- [29] Xu X M, Ye H C, Li G F. Progress in research of plant tolerance to saline stress. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2000, 6(4): 379–387.
许祥明, 叶和春, 李国凤. 植物抗盐机理的研究进展. *应用与环境生物学报*, 2000, 6(4): 379–387.
- [30] Jing Y X, Yuan Q H. Effects of salt stress on seedling growth of alfalfa (*Medicago sativa*) and ion distribution in different alfalfa organs. *Acta Prataculturae Sinica*, 2011, 20(2): 134–139.
景艳霞, 袁庆华. NaCl胁迫对苜蓿幼苗生长及不同器官中盐离子分布的影响. *草业学报*, 2011, 20(2): 134–139.
- [31] Feng Y, Wang H, Han W. Effects of salt stress on absorption and distribution of Na⁺ and K⁺ ability of limiting sodium in winter wheat seedlings. *Shandong Agricultural Sciences*, 2019, 51(4): 35–38.
丰燕, 王恒, 韩伟. 盐胁迫对冬小麦苗期Na⁺、K⁺吸收分配及限钠能力的影响. *山东农业科学*, 2019, 51(4): 35–38.
- [32] Shi L R, Bai L R, Cui X G. Effect of salt stress on absorption and distribution of Na⁺, K⁺, Cl⁻ in triticales cultivars with different salt-tolerance. *Journal of Triticeae Crops*, 2014, 34(4): 546–551.
时丽冉, 白丽荣, 崔兴国. NaCl胁迫对不同耐盐性小黑麦苗期Na⁺、K⁺、Cl⁻吸收及分配的影响. *麦类作物学报*, 2014, 34(4): 546–551.
- [33] Golldack D, Quigley F, Michalowski C B, *et al.* Salinity stress-tolerant and sensitive rice (*Oryza sativa* L.) regulate AKT1-type potassium channel transcripts differently. *Plant Molecular Biology*, 2003, 51(1): 71–81.
- [34] Yang L, Zhao G Q, Zhou X R, *et al.* K⁺, Na⁺ accumulation and *AsSOS1* gene expression in response to salt stress in oat. *Acta Agrestia Sinica*, 2023, 31(2): 337–348.
杨莉, 赵桂琴, 周向睿, 等. 燕麦K⁺、Na⁺积累与*AsSOS1*基因表达对盐胁迫的响应. *草地学报*, 2023, 31(2): 337–348.
- [35] Yang T Y, Zhang S, Hu Y B, *et al.* The role of a potassium transporter *OsHAK5* in potassium acquisition and transport from roots to shoots in rice at low potassium supply levels. *Plant Physiology*, 2014, 166(2): 945–959.