

铝胁迫对紫花苜蓿生长及根系发育的影响

许文花¹, 杨蔚², 段新慧¹, 罗富成¹, 任健¹, 单贵莲¹, 孙文君¹, 张冉¹, 马向丽¹

(1. 云南农业大学 动物科学技术学院, 云南 昆明 650201; 2. 红云红河集团

昆明卷烟厂, 云南 昆明 650202)

摘要:对2个紫花苜蓿(*Medicago sativa*)品种德钦和游客在不同浓度 Al^{3+} (0, 50, 100, 200, 500 mol/L)胁迫下的根长、株高、生物量、根系活力、SOD、POD活性等指标进行研究。结果表明:苜蓿的根部经苏木精染色后,供试紫花苜蓿根部的颜色随 Al^{3+} 浓度上升而加深。不同浓度 Al^{3+} 均明显抑制了紫花苜蓿品种根和株高的生长。与对照相比紫花苜蓿根长、株高、地上和地下生物量随 Al^{3+} 浓度的增加明显降低。在较低浓度的 Al^{3+} 处理下(≤ 200 mol/L)游客苜蓿根长的抑制率小于德钦苜蓿,而当 Al^{3+} 胁迫达到较高浓度时(500 mol/L),游客苜蓿根长受抑制率大于德钦苜蓿。随着 Al^{3+} 浓度的增加,两个紫花苜蓿品种的根系活力、POD、SOD活性下降,丙二醛含量增加。在酸性土壤条件下,紫花苜蓿地方品种德钦对高铝浓度表现出较高的适应性,游客在低铝浓度下表现出较强适应性。

关键词:紫花苜蓿;铝胁迫;生长;生化指标

中图分类号:S54 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2020)06-0071-05

DOI: 10.13817/j.cnki.cyyep.2020.06.011

紫花苜蓿(*Medicago sativa*)是全球主要种植和饲用的豆科牧草。近年我国对优质苜蓿的需求逐步扩大,苜蓿草产业迎来一个快速发展时期^[1]。我国苜蓿的种植面积在北方地区不断扩大,在南方种植面积相对较少。长江流域以南,强降水导致土壤酸度增加,养分缺乏、离子不平衡、活性铝和氢离子浓度过高等,严重影响植物生长,限制其产量与品质的提高^[2]。前人的研究表明,中国南方酸性土壤条件下,铝的溶解度会大大增加,产生对植物有毒害的离子形态 Al^{3+} ,在微摩尔浓度级水平下就可对植株产生毒害^[3]。铝离子能快速抑制植物根系的生长,增加植物对其他逆境的敏

感性^[4]。酸性土壤条件下根生长受抑制是植物受 Al^{3+} 毒害的典型症状^[5]。在铝胁迫条件下,植物最明显的外在表现为根系和地上部生长均受到明显抑制,因此根、茎相对伸长率被广泛作为筛选耐铝植物的指标^[6]。有研究表明随着铝浓度的提高,竹节草(*Chrysopogon aciculatus*)叶片枯黄率呈上升趋势,叶片颜色和坪用质量则呈下降趋势^[7]。在酸性土壤条件下研究不同铝浓度梯度作物生长情况,结果表明酸性土壤是限制作物生长的主要原因^[8]。杨丹娜等^[9],胡锦涛等^[10]研究表明酸铝共同胁迫对苜蓿、狼尾草(*Pennisetum glaucum*)种子发芽和幼苗生长的影响大。当 $pH < 4.5$, Al^{3+} 浓度 $\geq 50 \mu mol/L$ 时,即可对苜蓿芽苗的生长产生明显的抑制作用。在中国南方成功推广紫花苜蓿的种植,还需进行大量试验及实地的研究考察。近几年的研究表明,苜蓿对酸性土壤的耐铝性存在明显的基因型差异^[11],选择具有耐酸性耐铝性的品种或类型,可为耐酸性耐铝性遗传育种提供资源,为开发利用提供基础^[12-13]。鉴于此,本研究在酸性土壤条件下研究在不同铝胁迫下不同苜蓿品种的耐铝性,主要对植株的株高、根长的抑制率,根系抗氧化系统的反应机理以及根系活力、丙二醛含量等

收稿日期:2020-01-03; **修回日期:**2020-02-24

基金项目:云南省基础研究计划面上项目(2019FB044);云南省重点研发项目子课题(2018BB001-03);云南省重大科技专项—绿色食品国际合作研究中心项目(2019ZG009)

作者简介:许文花(1978-),女,云南罗平人,硕士,主要从事草业科学实验教学工作。

E-mail: susany@sina.com

马向丽为通讯作者。

E-mail: xfmxiangli@126.com

指标进行研究,为开发具有耐酸铝性的品种提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

于2017~2018年在云南农业大学动物科学技术学院草业系实验室开展试验,供试野生德钦苜蓿种子于2016年采于云南省迪庆州德钦县,游客紫花苜蓿种子购于云南绿盛美地草业有限公司。

1.2 试验设计

供试材料种植在云南农业大学草业科学实验室人工智能温室,采用12孔育苗盘蛭石育苗。2017年4月1号播种苜蓿种子于培养基质,4月4号出苗,观察发芽情况,出苗后浇Hoagland完全营养液,培养10d开始浇不同铝浓度的处理溶液。将营养液pH值调整为4.5,铝胁迫浓度设为:0、50、100、200、500 mol/L,以pH 4.5的正常营养液为对照。各处理设3次重复,共胁迫处理10d,测定各材料的根长,株高及各项生理指标。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 苏木精溶液和染色处理 将各处理紫花苜蓿根尖,用去离子水浸洗5min,洗去根尖表面残留的 Al^{3+} ,于苏木精染色液中染色30min。染色后的根尖再置于去离子水中浸洗15min^[14],在纸上进行染色深浅的观察。

1.3.2 根茎伸长及生物量的测定 铝胁迫处理第10d,分别取对照和铝胁迫处理样品10株,测定各组植株的根长、株高,取平均值。称量植株地上部的重量、地

下所有根部的重量,计算抑制率,计算公式如下:

$$\text{抑制率} = (\text{CK} - a) \div \text{CK} \times 100\%$$

式中:a代表处理组测定值,CK为对照组测定值。

1.3.3 根系活力与生化指标的测定 分别取对照和铝胁迫处理样品根系,按照叶尚红^[15]方法测定根系活力和SOD活性。POD活性测定采用愈创木酚法,丙二醛含量用硫代巴比妥酸测定。

1.4 统计与分析

对苜蓿幼苗各指标进行铝胁迫浓度效应分析,采用Excel 2010整理数据并进行图表绘制。SPSS 11软件进行多重比较($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 苏木精染色分析

对 Al^{3+} 处理后的2个紫花苜蓿品种根系进行苏木精染色,测定根系受铝胁迫的伤害程度,发现经过50 mol/L处理的苜蓿根尖部分被染成了淡紫色,经100 mol/L处理的紫花苜蓿大部分根部被染成了紫红色,200 mol/L处理的被染成紫色,经500 mol/L处理的根被染成深紫色。

2.2 不同铝浓度处理对紫花苜蓿植株生长的影响

2.2.1 根长 不同浓度铝处理下苜蓿根长均受到了明显的抑制,游客和德钦的根长从8.34 cm和6.21 cm,分别降低至4.24 cm和3.65 cm。游客和德钦苜蓿在500 mol/L Al^{3+} 处理下,两个品种的根长均与对照差异显著($P < 0.05$),但在其他铝浓度胁迫下,两个品种根长均无显著差异($P > 0.05$)。同一浓度下游客苜蓿的根长大于德钦苜蓿(表1)。

表1 不同铝浓度处理下紫花苜蓿的根长、株高

Table 1 Effects of different aluminum stress on root length and plant height

Al^{3+} 浓度/(mol · L ⁻¹)	游客根长/cm	德钦根长/cm	游客株高/cm	德钦株高/cm
0(CK)	8.34±0.36 ^a	6.21±0.19 ^a	6.78±0.16 ^a	7.91±0.27 ^a
50	5.69±0.46 ^{ab}	4.225±0.52 ^b	5.04±0.24 ^b	5.15±0.25 ^b
100	5.8±0.16 ^{ab}	3.80±0.16 ^b	4.79±0.06 ^b	4.36±0.18 ^b ^c
200	5.32±0.36 ^{ab}	3.67±0.10 ^b	3.71±0.36 ^c	4.46±0.32 ^{bc}
500	4.24±1.00 ^b	3.65±0.15 ^b	3.36±0.24 ^c	4.28±0.21 ^c

注:表中的同列不同小写字母说明差异显著($P < 0.05$)

在100 mol/L Al^{3+} 浓度处理下,游客根长抑制率为37.5%,而德钦根长抑制率是33.8%。游客苜蓿抑制率高于德钦苜蓿。而在50、200 mol/L处理下游客苜蓿的抑制率低于德钦苜蓿,德钦苜蓿根长抑制率达

到40.9%。较高浓度500 mol/L时游客苜蓿抑制率超过了德钦苜蓿,根长抑制率达到49.2%,德钦苜蓿在此浓度下,根长抑制率为41.2%。

2.2.2 株高 在50、100、200、500 mol/L铝胁迫下游

客的株高明显降低,从对照株高 6.78 cm 分别降低到 5.04、4.79、3.71、3.36 cm;德钦苜蓿的株高也明显降低,从对照株高 7.91 cm 降低到 4.28 cm。两个紫花苜蓿品种在 4 种浓度 Al^{3+} 处理后根长与对照相比均有减少($P < 0.05$)。游客苜蓿在 50、100 mol/L 处理时差异不显著,500 mol/L 时与 CK 差异达到显著。德钦苜蓿在 Al^{3+} 浓度为 50、100 mol/L 增加到 500 mol/L 时株高逐渐降低,与对照差异显著($P < 0.05$) (表 1)。

Al^{3+} 浓度在 50、100 mol/L 时,游客苜蓿的株高抑制率分别 25.7%、29.4%。而德钦苜蓿的株高抑制率分别为 34.9%、44.9%。游客苜蓿株高抑制率明显低于德钦苜蓿。在 Al^{3+} 浓度达到 200、500 mol/L 时游

客株高的抑制率分别为 45.3%、50.4%。德钦苜蓿的株高抑制率分别为 43.6%、45.9%。相同浓度 Al^{3+} 处理下游客苜蓿株高的抑制率较德钦苜蓿高。

2.2.3 生物量 不同浓度 Al^{3+} 胁迫下游客苜蓿植株地上生物量和地下生物量均受到影响,随 Al^{3+} 浓度增加游客苜蓿地上生物量从 14.94 mg 降低到 4.28 mg,不同处理间差异显著($P < 0.05$),植株地上生物量明显受抑制。游客苜蓿的地下生物量由 6.32 mg 降低到 0.68 mg,表现出明显降低的趋势,且 4 种浓度处理下与对照相比差异水平达到了显著水平($P < 0.05$)。德钦苜蓿植株地上和地下生物量在 4 种浓度铝胁迫下,表现出明显降低的趋势,且不同浓度间差异显著($P < 0.05$) (表 2)。

表 2 不同铝浓度处理对两种紫花苜蓿的地上、地下生物量的影响

Table 2 Effects of different aluminum stress on above and underground biomass

Al^{3+} 浓度/(mol · L ⁻¹)	游客		德钦	
	地上生物量/mg	地下生物量/mg	地上生物量/mg	地下生物量/mg
0	14.94±0.17 ^a	6.32±0.09 ^a	7.65±0.06 ^a	2.79±0.04 ^a
50	9.65±0.19 ^b	2.74±0.02 ^b	5.23±0.16 ^b	1.83±0.02 ^b
100	8.65±0.13 ^c	1.52±0.02 ^c	4.24±0.09 ^c	1.34±0.02 ^c
200	5.50±0.11 ^d	0.87±0.01 ^d	3.18±0.02 ^d	1.03±0.02 ^d
500	4.28±0.12 ^e	0.68±0.02 ^e	2.10±0.07 ^e	0.59±0.001 ^e

注:表中的同列小写字母不同则说明差异显著, $P < 0.05$

Al^{3+} 浓度在 50 mol/L 游客地上生物量受抑制率要高于德钦苜蓿,在浓度 100、200 和 500 mol/L 时,游客苜蓿地上生物量受抑制率低于德钦苜蓿。游客地上生物量抑制率分别为 35.4%、31.6%、56.7%、34.4%。德钦的地上生物量抑制率分别为 31.6%、44.6%、58.4%、72.5%。游客苜蓿的地下生物量在 4 个 Al^{3+} 浓度处理下的受抑制率均高于德钦苜蓿。游客苜蓿的地下生物量的抑制率在不同浓度间分别为 56.7%、76%、86.2%、89.2%。德钦苜蓿地下生物量的抑制率分别为 34.4%、52.0%、63.1%、78.9% (表 2)。

2.3 不同铝浓度处理对紫花苜蓿根系生化指标的影响

2.3.1 根系活力 随 Al^{3+} 浓度的增加,2 个紫花苜蓿品种的根系活力均逐渐降低,游客苜蓿的根系活力从 169.47 $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$ 降到 75.75 $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$,根部受抑制明显。同一处理条件下游客苜蓿的根系活力大于德钦苜蓿 (表 3)。

2.3.2 超氧化物歧化酶、过氧化物酶活性 随着 Al^{3+} 浓度的增加,两个紫花苜蓿品种根系 SOD、POD

活性呈下降趋势,游客苜蓿 POD 活性在 0、50、100 mol/L 间差异显著($P < 0.05$)。游客苜蓿和德钦苜蓿的 SOD 活性在 5 个浓度间差异显著($P < 0.05$)。

2.3.3 丙二醛的含量 随着 Al^{3+} 浓度的增加,紫花苜蓿根部丙二醛含量增加,不同浓度间都有差异。游客苜蓿在 0、50、100 mol/L 间差异显著($P < 0.05$)。德钦苜蓿在 3 个浓度之间没有显著差异($P < 0.05$)。相同 Al^{3+} 浓度处理游客丙二醛含量大于德钦苜蓿。

3 讨论

不同铝浓度处理后对苜蓿根部进行染色后发现,苏木精染色可以明显观察到 Al^{3+} 处理后各部位的颜色差异。有研究报道,在相同处理部位,用不同浓度 Al^{3+} 对豌豆根尖进行相同时间的处理,发现苏木精的染色随 Al^{3+} 浓度的增高而加深。本实验对比观察可以看出经不同浓度 Al^{3+} 处理的两种紫花苜蓿的染色深度也随 Al^{3+} 浓度增高而染色剂染色加深。说明紫花苜蓿受 Al^{3+} 伤害随浓度增加而增高。这与前人^[16-17]的研究相一致。

表3 不同铝浓度处理下两种紫花苜蓿的根系活力、POD、SOD活性、丙二醛含量

Table 3 Effects of different aluminum stress on root vitality, POD, SOD, and MDA of two alfalfa species

Al ³⁺ 浓度 (mol · L ⁻¹)	根系活力/ (μg · g ⁻¹ · h ⁻¹)		POD 活性/ (U · g ⁻¹ · min ⁻¹)		SOD 活性/ (U · g ⁻¹ · min ⁻¹)		丙二醛含量/ (nmol · g ⁻¹)	
	游客	德钦	游客	德钦	游客	德钦	游客	德钦
0	169.47± 5.11 ^a	68.02± 2.56 ^a	0.017± 0.000 3 ^a	0.014± 0.000 2 ^a	24.71± 0.37 ^a	18.21± 0.54 ^a	1.58± 0.08 ^a	1.38± 0.02 ^a
50	131.79± 5.11 ^b	58.35± 2.56 ^{ab}	0.015± 0.000 1 ^b	0.010± 0.000 3 ^b	21.39± 0.64 ^b	14.94± 0.74 ^b	1.78± 0.07 ^b	1.76± 0.06 ^{ab}
100	124.06± 4.43 ^b	51.59± 1.67 ^{bc}	0.011± 0.000 2 ^c	0.008± 0.000 2 ^c	16.94± 0.52 ^c	11.64± 0.56 ^c	1.96± 0.05 ^c	1.59± 0.20 ^b
200	110.53± 10.89 ^b	40.96± 3.86 ^c	0.008± 0.000 2 ^c	0.006± 0.000 3 ^d	13.27± 0.86 ^d	8.13± 0.78 ^d	5.91± 0.31 ^d	2.30± 0.16 ^b
500	75.75± 5.11 ^b	24.54± 3.48 ^d	0.007± 0.000 3 ^c	0.004± 0.000 4 ^e	9.55± 0.45 ^e	4.23± 0.48 ^e	2.96± 0.19 ^c	2.50± 0.20 ^b

注:表中的同列小写字母不同则说明差异显著, $P < 0.05$

酸性环境下不同浓度铝直接作用于苜蓿植株根、地上植株部分。铝浓度高于 50 mol/L 对植物的生长发育造成很大威胁,各指标与对照差异显著。根系是植物吸收、转化和储藏养分的重要器官。同时根茎也是产生枝条的重要部位,直接影响苜蓿植株生产性能和可持续性利用^[18,19]。在微量下 60 min 内即能抑制根系的生长^[11]。本试验研究表明,在不同浓度铝胁迫 10 天后,紫花苜蓿植株的根长,根重(地下生物量),在不同处理间、不同品种间表现明显差异;铝胁迫进一步影响株高,地上植株的重量(地上生物量),植株的各个指标都明显地受到抑制,这与前人研究的结果相一致^[9],随 Al³⁺ 浓度增加各指标的受抑制率增加。两种紫花苜蓿在不同 Al³⁺ 浓度的胁迫下抑制率表现出不同的趋势。在相对较低的铝胁迫浓度下游客苜蓿的抑制率小于德钦苜蓿。而当铝胁迫达到较高浓度时,游客苜蓿受抑制率大于德钦苜蓿。说明游客苜蓿对高浓度铝胁迫耐受性低,而对低浓度铝胁迫有一定的耐受性,德钦苜蓿则反之。

根系活力指数是反映根系生长状况和活力水平的重要指标。根系活力的高低反映了植物对养分的吸收和植物体内的代谢作用、营养状况和产量水平。本研究表明:随着铝浓度的增加,植株根系活力下降,生长代谢变慢。本实验也进一步研究了铝胁迫对苜蓿抗氧化系统的影响,随着铝浓度的增加,POD、SOD 的酶活性下降,催化能力减小,清除自由基的能力减小。而膜质过氧化反应的产物就是丙二醛,丙二醛的积累对根系造成伤害,随着铝浓度的增加,根系丙二醛含量增加,表

明根系伤害程度增加,这与陈志刚^[20]研究相一致。

4 结论

在酸性环境下苜蓿植株受铝的毒害在不同处理下表现出不同的适应性,德钦苜蓿是云南栽培的一个野生种,高浓度下表现出对 Al³⁺ 较高的适应性。而游客苜蓿在低 Al³⁺ 浓度下表现出适应性强,根据土壤的铝浓度不同选择不同的栽培品种。

参考文献:

- [1] 马翔雷,刘忠涛,王雅静.我国苜蓿草产业发展现状和趋势研究[J].河南农业,2013(11):10-14.
- [2] 郭彦军,黄建国.紫花苜蓿在酸性土壤中的生长表现[J].草业学报,2006,15(1):84-89.
- [3] 杨建立,何云峰,郑绍建.植物耐铝分子机理研究进展[J].植物营养与肥料学报,2005,11(6):836-845.
- [4] Ma J F. Plant root responses to three abundant soil minerals: silicon, aluminum and iron[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 2005, 24(4): 267-281.
- [5] Zhao Z Q, Ma J F, Sato K, et al. Differential Al resistance and citrate secretion in barley (*Hordeum vulgare* L.) [J]. Plant, 2003, 217(5): 794-800.
- [6] Foy C D, Carter T E J, Duke J A, et al. Correlation of shoot- and root growth and its role in selecting for Al tolerance in soybean [J]. Plant Nutrition, 1993, 16(3): 305-325.
- [7] 张静,廖丽,张欣怡,等.竹节草对铝胁迫响应及临界浓度筛选[J].草业科学,2014,31(8):1498-1502.
- [8] 王新海,毕玉芬,奎嘉祥.耐酸性紫花苜蓿的研究进展[J].云南农业大学学报,2005,20(5):705-709.
- [9] 杨丹娜,骆夜烽,谢家琪,等.酸、铝胁迫对苜蓿种子发芽

- 和幼苗生长的影响[J]. 草业学报, 2015, 24(8): 103-109.
- [10] 胡锦涛, 李靖, 尚丹, 等. 酸铝胁迫对狼尾草种子萌发和幼苗恢复生长的影响[J]. 种子, 2015, 12(2): 21-25.
- [11] 李海庆. 紫花苜蓿铝胁迫抗性的基因型差异研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006.
- [12] Kong F, Sang W, Jingt X, *et al.* Aluminum toxicity and tolerance in plants[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2000, 107(2): 315-321.
- [13] 黎晓峰, 秦丽凤, 李耀燕, 等. 不同木豆品种耐铝性的基因型差异及其机理研究[J]. 生态环境, 2005, 14(5): 690-694.
- [14] 何丽烂, 喻敏, 王惠珍, 等. 豌豆根尖铝毒的敏感浓度探讨[J]. 华中农业大学学报, 2010, 29(1): 45-47.
- [15] 叶尚红. 植物生理生化实验教程[M]. 昆明: 云南农业大学出版社, 2013: 73-74.
- [16] Wagatsuma T, Kawashima T, Tawaraya K. Comparativestainability of plant root cells with basic dye (methyleneb) in association with Al tolerance[J]. *Communnication, Soil Science & Plant Analysis*, 2008, 19(7-12): 1207-1215.
- [17] 于智卫, 傅友强, 沈春鹏, 等. 不同作物对赤红壤酸铝毒害的响应研究[J]. 土壤通报, 2011, 42(6): 1476-1480.
- [18] 南丽丽, 师尚礼, 张建华. 不同根型苜蓿根系发育能力研究[J]. 草业学报, 2014, 23(2): 117-124.
- [19] 彭岚清, 李欣勇, 齐晓, 等. 紫花苜蓿品种根部特性与持久性和生物量的关系[J]. 草业学报, 2014, 23(2): 147-153.
- [20] 陈志刚, 周晓红, 张珂. 铝胁迫对黑麦草根系抗氧化酶活性和丙二醛含量的诱导特征研究[J]. 土壤通报, 2012, 43(2): 391-394.

Effect of aluminum stress on shoot and root growth of alfalfa under acidic conditions

XU Wen-hua¹, YANG Wei², DUAN Xin-hui¹, LUO Fu-cheng¹, REN Jian¹,
SHAN Gui-lian¹, SUN Wen-jun¹, ZHANG Ran¹, MA Xiang-li¹

(1. College of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;
2. Kunm Cigarette Factory of Hongyunhonghe Group, Kunming, 650202, China)

Abstract: In south of China, aluminum stress is a barrier factor for alfalfa planting in acid soils, inhibition of root growth is a typical symptom of plants under aluminum stress. It is of great economic significance to study the aluminum toxicity of plant roots for the cultivation of alfalfa in southern China. In this study, two kinds of alfalfa (*Medicago sativa*) (Deqin and Eureka) in acidic soil was studied under aluminum stress. The effects of different Al^{3+} concentrations (0, 50, 100, 200, and 500 mol/L) on root length, plant height, biomass, root activity, SOD, and POD of alfalfa were analyzed. After the roots of alfalfa were stained with hematoxylin, the color of alfalfa roots deepened with the increase of Al^{3+} concentration. The results showed that the different concentrations of aluminum significantly inhibited the root and plant height growth of the two alfalfa species. Compared with the control, the root length, plant height, aboveground biomass, and underground biomass of alfalfa decreased significantly with the increase of Al^{3+} concentration, and there were significant differences between different varieties. Under the relatively low concentration of aluminum stress (≤ 200 mol/L), the inhibition rate of root length in Eureka was less than that of Deqin, while the inhibition rate of root length in Eureka was greater than that of Deqin when aluminum stress reached at high level. With the increase of the concentration of aluminum, the activity of root system, POD, and SOD decreased, the content of malondialdehyde increased, and the difference between different varieties was significant. In conclusion, under different acidic soil conditions, a local variety alfalfa Deqin and a popularized variety Eureka showed different aluminum tolerance.

Key words: alfalfa cultivars; aluminum concentration; root length and plant height; inhibition rate; root biochemical indexes