

苜蓿干旱胁迫的生理响应及其分子水平的研究进展

马巧利¹, 孙彦¹, 杨青川²

(1. 中国农业大学 动物科技学院 草业科学系, 北京 100193; 2. 中国农业科学院 畜牧研究所, 北京 100094)

摘要: 苜蓿在干旱胁迫下的适应能力较强, 能通过自身的生理代谢、结构发育和形态建造等方面适应干旱的环境条件。有关苜蓿的抗旱性研究一直以来都是牧草学研究的热点之一, 研究领域也逐渐从形态水平发展到生理、生化及分子生物学等更深入的领域, 并取得了很多有价值的研究成果。现对苜蓿在干旱胁迫下各项生理指标、基因工程及蛋白质组学的研究进行综述, 并对研究中存在的问题及今后的应用前景进行了简单的讨论。

关键词: 苜蓿; 抗旱; 生理响应; 分子水平研究

中图分类号: S 541.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)14-0183-05

紫花苜蓿是世界上栽培最早、种植最广的饲草, 经“丝绸之路”传入我国之后, 栽培已有二千多年的历史。紫花苜蓿在东北、华北、西北地区已普遍种植, 南方也有栽培。苜蓿属(*Medicago sativa* L.)植物在全世界约有 100 余种, 广泛分布于全球各地, 欧洲、亚洲和非洲较多, 大多是野生草本植物, 多为重要的饲料植物^[1]。苜蓿是最严重的耗水牧草^[2], 水分胁迫是各种作物及牧草减产的最主要的原因^[3]。在当前西部开发战略中提出的农业结构调整、退耕还林还草和生态建设的要求中, 提出以适宜于防风固沙和农牧业产业化为方向的多年生豆科草本植物-紫花苜蓿、黄花苜蓿为改良对象, 通过基因工程, 将抗旱、抗冻、耐盐碱基因导入受体植物材料, 培育具有优良性状和抗逆特性的草地植物新品种, 为西部植被建设工程和农牧业产业发展服务。

1 干旱胁迫对苜蓿植株组织形态的影响

1.1 对苜蓿植株生长的影响

干旱抑制不同植物细胞的延伸生长(简称伸长), 最终表现为对器官生长发育的抑制。目前, 对干旱抑制生长的机理有如下解释: 干旱抑制细胞伸长是因为细胞伸长最易受膨压降低所控制^[4]。苜蓿处于干旱条件下, 其植株类型及组织形态均发生了较大的改变, 从而使个体能够在逆境中存活下去。干旱带给植物的最直接影响首先表现在生长变化上, 李文饶等^[5]研究发现, 紫花苜蓿幼苗叶片及茎受到水分胁迫后, 不同供试品种植株的生长均受到了显著抑制, 这与陈淑义等^[6]研究结果相同, 即经过干旱-复水的循环处理, 植

物形态特征和生长状况有很大影响, 干旱胁迫抑制植株高度的伸长, 干旱期株高生长速率缓慢, 甚至停止生长, 复水处理后株高均有补偿生长现象。除株高外, 叶片和茎生物量也受到水分胁迫的影响, 并且苜蓿品种对水分亏缺的抵抗能力和旱后复水的补偿能力可能存在品种间差异。在人工模拟干旱胁迫条件下, 所有苜蓿种质的存活率、株高、地上生物量和地下生物量均呈明显下降趋势^[7-8]。

1.2 对苜蓿主要组织器官的影响

由于遗传和环境条件的差异, 不同植物对干旱具有不同的适应性, 在叶片结构上, 主要是向着降低蒸腾、增强储水性和提高光合效率几方面发展^[9]。寇建村^[10]等研究发现, 不同苜蓿品种叶片的抗旱性解剖结构之间差异极显著。各指标的灵敏度大小依次为: 叶片厚度>中脉厚度>栅栏组织厚度>海绵组织厚度>栅栏组织/海绵组织>上表皮厚度>气孔密度>叶片组织结构紧密度>下表皮厚度>叶片组织结构疏松度>气孔长度>角质层厚度。并且不同紫花苜蓿品种叶片具有不同的抗旱性结构^[11]。随着干旱处理时间的继续, 幼苗株高、根长、分枝、根颈直径、叶面积都不同程度的呈减小趋势^[12-13], 根长减小幅度较小, 且抗旱性能不同的植株, 下降的程度也不同, 相比较抗旱能力弱的品种下降的幅度较大^[16]。

2 干旱胁迫对苜蓿生理指标的变化

干旱胁迫下植物体内会引发一系列的生理变化。比如细胞的水势变化, 各种内含物的增减, 光合作用的变化, 都在不同程度上反应了植物受干旱胁迫的程度。王赫^[17]通过用盆栽称重补水和干旱-复水 2 种方法对黄花苜蓿研究发现, 自然饱和亏、需水程度、束缚水/自由水、离体叶片保水力、电导率、SOD 活性、可溶性糖含量、丙二醛含量、日平均光合速率和蒸腾速率与黄花苜蓿抗旱能力之间存在一定的相关性, 且都能在不同角度和不同程度上反映黄花苜蓿材料间抗旱能力的差

第一作者简介: 马巧利(1987-), 女, 在读硕士, 研究方向为草坪分子生物学。E-mail: mq_l_2008@126.com。

责任作者: 孙彦(1964-), 女, 副教授, 研究方向为草坪与城市绿化和牧草与草坪种子检验。E-mail: ctsoffice@yahoo.com.cn。

基金项目: 国家产业技术体系科研专项资助项目。

收稿日期: 2011-04-05

异。吕世杰^[18]研究发现,与黄花苜蓿材料抗旱能力存在相关性的因子其关联序为:日平均光合速率>E1 平均蒸腾速率>可溶性糖>束缚水/自由水>离体叶片保水力>丙二醛>需水程度>SOD 活性>自然饱和亏>电导率。影响黄花苜蓿抗旱能力最主要的因子是日平均光合速率,电导率影响黄花苜蓿抗旱能力的作用最小,其它因子介于前二者之间。

2.1 苜蓿水势的变化

渗透调节是植物在水分逆境下降低渗透势,抵抗逆境胁迫的一种重要方式,作为植物的重要耐旱和抗逆生理机制,近些年得到较广泛研究。大量文献资料研究表明,随着干旱天数的增加,干旱发生后苜蓿叶片水势下降,渗透调节能力增强,这说明干旱发生后苜蓿叶片通过体内水分的降低,相对增加细胞内部的溶质浓度,使渗透势下降,提高渗透调节能力^[19-20]。

2.2 几种内含物的变化

目前研究最多的是脯氨酸和多糖受干旱胁迫后含量的变化。脯氨酸(Proline, Pro)是在植物组织内是作为一种理想的渗透物质和防脱水剂,受到了广泛的关注。李波等^[21]研究发现,苜蓿在不同浓度 PEG 溶液和一定时间范围内都有游离脯氨酸的累积,累积脯氨酸是苜蓿幼苗对干旱环境的适应性表现,与其它干旱胁迫下植物表现一样,苜蓿叶片游离脯氨酸含量均随干旱胁迫强度的加剧而增加^[22-26]。

植物在水胁迫的环境下,糖类合成酶的表达活跃,使植物细胞内含糖量增加,糖类能稳定细胞中的蛋白质和细胞膜,有利于调节植物细胞内渗透压与外界平衡,防止水分丢失。干旱胁迫下,苜蓿植株中可溶性糖浓度增加^[27],但苜蓿叶片比茎的可溶性糖含量低,但受到胁迫后变化幅度比茎的大,说明叶片和茎中可溶性糖含量的大小以及受到伤害后的变化机制存在生物学上的差异^[28]。同时研究发现苜蓿可溶性糖含量大小也存在品种间差异^[29]。

刘晓东等^[30]研究了干旱胁迫下苜蓿叶片葫芦巴碱含量的变化和渗透调节能力。结果表明,干旱处理的苜蓿品种间存在明显差异,而且在干旱的前期葫芦巴碱同脯氨酸一样起到渗透调节物质的作用。但是在严重水分胁迫下作为渗透调节物质的能力减弱。另一方面,葫芦巴碱可作为细胞生长的调节因子,在水分胁迫下延长植物细胞周期的长度,抑制细胞生长,细胞体积缩小,使细胞体内的溶质浓度相对增加,从而实现渗透调节。

赵金梅等^[31]研究了在水分胁迫下叶片水分饱和亏缺、甜菜碱含量、甜菜碱醛脱氢酶活性和脱落酸含量在水分胁迫下明显增加,品种间差异显著;叶片水分饱和和亏缺在中度和重度胁迫下明显增加。脱落酸可能通过甜菜碱醛脱氢酶活性来影响水分胁迫下苜蓿叶片的甜菜碱积累。

2.3 对氧化酶的影响

随着水分胁迫的加剧,抗旱性越好的植株其游离

SOD 酶、POD 酶其增加的程度越大^[32],而抗旱性越差的植株增加幅度较小,但细胞膜透性恰恰相反,在同样干旱条件下,成年苜蓿体内的酶不需要太大幅度的变化,而幼苗苜蓿则要大量增加体内酶的含量来抵抗干旱的胁迫,所以成年苜蓿要比幼苗苜蓿耐旱的多^[33]。叶片 SOD、POD、CAT 和 MDA 含量随水分胁迫强度的增加而增加^[34],SOD、POD 含量随胁迫时间的延长而增加,CAT 含量随胁迫时间的延长先增加后降低,且受胁迫越重,复水后含量越高^[35]并且抗旱性强的品种在干旱胁迫下草产量高,叶片 CAT、POD 和 SOD 活性存活率^[36]。

3 干旱胁迫对苜蓿光合作用的影响

干旱胁迫下植物光合作用受到极大的影响,表现为净光合、蒸腾速率下降,气孔导度减小,水分有效利用率降低等现象^[37]。韩瑞宏等^[38]研究发现,干旱胁迫下紫花苜蓿叶片净光合速率(P)、蒸腾速率(E)、气孔导度(G)、叶绿素含量(Chl)都有不同幅度的下降;叶绿体超微结构遭到破坏。相比而言,抗旱性强的苜蓿随干旱胁迫程度的加深,净光合速率下降较慢,叶绿体的外形及基粒结构受到的影响较小。刘玉华等^[39]通过对旱作条件下生长第4年的4个紫花苜蓿品种叶片光合生理特性变化规律的系统性研究与比较表明,4个苜蓿品种 Pn(叶光合速率)、Gs(气孔导度)和 Tr(蒸腾速率)的日变化曲线均呈“双峰”型,12:00 左右存在明显的光合“午休”现象,但不同品种 Pn、Gr 和 Ts 的高峰和低谷出现的时刻和高低不同。据推测4个品种的光合“午休”主要受气孔因素限制。相关分析结果表明,对 Pn 影响最显著的因子是 PAR,其次是 Gs、RH(相对湿度)、Ta(大气温度)和 VPD(光合有效辐射);对蒸腾速率影响最显著的因子为 PAR,其次 RH、Ta、Gs 和 VPD。Xu 等研究发现 Tr 的日变化曲线并不是总表现为“双峰”型,说明不同品种之间上述指标变化是有差异的^[40]。

4 苜蓿耐旱分子水平的研究

4.1 苜蓿耐旱性的基因研究

在一定干旱阈值(Drought threshold)胁迫范围内,很多植物能够进行相关抗旱基因的表达,随之产生一系列生理、生化及形态结构等方面的变化,从而显现出抗旱性的综合性状。Djilianov D 等^[41]采用生物技术的方法育种时,通过体外耐 PEG,在研究过程中,用 40% 的 PEG 处理后,对不同基因型进行测试,相对含水量的变化不是很明显,但有脯氨酸的积累和离子渗漏现象的出现。他们之间的区别较明显,耐渗透压基因型的样品 PEG 处理后恢复 24 h 即可达到相对含水量,而敏感性植株则丧失了这种能力。近年来,通过转基因的方法获得抗旱性强的植株是育种的热点。

4.1.1 提高苜蓿抗旱能力的转基因工程 通过基因工程的方法提高作物的抗性是近年来研究的热点。目前已经克隆受干旱胁迫诱导的超氧化物歧化酶、过氧

化氢酶基因。将来自烟草的 Mn-SOD 酶表达于苜蓿, 使苜蓿抗旱性提高。超氧化物歧化酶(SOD)是抗氧化胁迫防御体系的重要成分, SOD 是目前通过转基因方法提高植物抗寒、抗旱性研究最为积极的对象。在转基因苜蓿中紫花苜蓿和沙打旺苗期生长和水分利用对土壤水分变化的研究, 叶绿体 SOD 的过量表达, 提高了它们对氧化胁迫的耐受性; SOD 在苜蓿线粒体中的过量表达也具有同样的效果; 转基因苜蓿 Chl SOD 的过量表达提高了植株对冻害的耐受性。1989 年, Bowler 把烟草的 Mn-SOD cDNA 导入苜蓿中, 发现转基因植物 SOD 活性增强^[42]。McKersie B D 等将表达锰超氧化物歧化酶基因 Mn-SOD cDNA 转化到苜蓿中, 通过对叶绿素荧光测定, 电解质渗漏等研究发现该转基因苜蓿能够降低水分亏缺所造成的伤害。3 a 田间试验表明, 在干旱胁迫下, 转基因紫花苜蓿的产量和存活率比对照显著提高^[43]。在国内, 韩利芳等^[44]通过农杆菌介导的方法, 将烟草 MnSOD 基因的 cDNA 序列导入保定苜蓿中, 成功的诱导了转基因植株的再生。刘媛等^[45]使用 4 种不同浓度的聚乙二醇(PEG6000)溶液处理转 BADH 基因苜蓿 SLM01、SLM05 株系及其未转基因的受体亲本, 14 d 后测定相关生理指标的变化, 结果说明转 BADH 基因苜蓿对 PEG 造成的渗透胁迫具有较强的抗性。Zhang 等^[46]将紫花苜蓿中克隆的与耐旱相关的转录因子 AP2 的 cDNA (WXP1)置于 CaMV 35S 启动子控制之下转入苜蓿, 使 WXP1 过表达。结果表明, 该基因诱导了大量的蜡相关基因, 从而使得苜蓿叶片表面的表皮蜡层大量增加, 转基因植株减少水分损失和抗旱的能力均有所提高, 同时也加快了植株复水后恢复的速度。Jiang Q^[47]采用 CER6 启动子在苜蓿中超表达 WXP1 基因, 结果如 Zhang 的研究, 转基因植株抗旱能力提高, 并且发现该基因还能与光合作用有关。Suárez R 等^[48]在苜蓿中超表达了海藻糖-6-磷酸酶基因和海藻糖-6-磷酸酶基因, 发现转基因植株具有较好的抗胁迫能力, 即有抗旱、抗寒、耐高的能力。Bao A K 等^[49]将拟南芥的液泡 H⁺ 离子焦磷酸化酶基因(H⁺-PPase)转入到苜蓿中, 研究发现转基因苜蓿对干旱和高盐的抗性增加了, 与野生型相比, 胁迫下光合能力增高了。

4.1.2 苜蓿中发现的与干旱胁迫相关的基因 湛虎^[50]用 mRNA 差异显示技术分析干旱胁迫下苜蓿基因表达与正常供给水分的苜蓿基因表达的差异片断。通过 RNA 的提取和 mRNA 差异显示技术筛选, 共得到苜蓿的差异表达片断 32 条。通过 DDRT-PCR 技术和 Reverse Northern 技术结合, 筛选得到 3 条苜蓿受干旱胁迫后差异表达的基因片断。其中, 1 个与基因库中拟南芥水通道蛋白(Water channel)控制基因同源性达到 99%, 为干旱诱导表达的重要基因。另外 2 个基因片断与其它基因的同源性都较低, 可能为干旱诱导表达的新基因。有丝分裂原激活蛋白(MAP)激酶与苜蓿的抗旱性相关^[51], Meskiene 等^[52]通过苜蓿

cDNA 表达文库对酵母信息素丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)途径的干扰, 分离得到 1 个 MP2C 基因, 研究发现该基因与植物抗旱所引起的应激活化蛋白激酶(SAMK)途径有关。罗琰^[53]从紫花苜蓿中分离得到 1 个 RNA 解旋酶基因, 命名为 MH1。研究结果表明, MH1 基因在植物耐受非生物胁迫的过程中起重要作用, 它通过提高某些逆境响应基因的表达提高植物的活性氧清除能力和渗透调节能力, 从而使得表达 MH1 的转基因拟南芥不同株系耐旱、耐盐和抗氧化胁迫能力都有显著提高, 说明紫花苜蓿中受胁迫诱导表达的解旋酶基因 MH1 参与了植物的耐旱、耐盐和抗氧化胁迫过程。2009 年又将该基因转入到拟南芥中, 再次确信了该基因表达能够提高植物抗旱、抗盐害的能力, 因为它对 ROS 起反应。Oberschall A^[54]将苜蓿中的 1 个应激基因-NADPH 依赖型醛糖醛还原酶基因在番茄中异位表达, 该转基因植株能长时间抵抗水分胁迫。Tapia G 等^[55]通过系统发育分析发现, 苜蓿的第 3 类内切几丁质酶中有 1 个命名为 Ltchi7 的基因簇, 它编码 1 个 334 氨基酸构成的肽段, 在干旱胁迫下, 该基因转录的丰度增强。

4.2 耐旱相关分子标记技术

通过分子标记的方法标记某种抗性基因, 是近年来育种的新技术。康俊梅等^[56]采用 RAPD 技术共筛选得到 48 个引物对不同抗旱性苜蓿品种池 DNA 扩增结果产生多态性, 其中 5 个引物能够稳定标记 DNA 多态性, 且特异性明显, 表明不同抗旱性苜蓿品种之间具有明显的遗传多样性。Sledge M K 等^[57]通过 SSR 标记(主要是将来源于表达序列标签(ESTs)和细菌人工染色体(BAC)的插入蒺藜苜蓿)构建 1 个四倍体苜蓿的分子标记图谱, 该图谱可用于苜蓿耐旱 QTL 的鉴定。

4.3 苜蓿耐旱的蛋白质工程

植物在生长发育过程中会遭遇各种不利环境因子如高温、低温、干旱和高盐等。植物感受这些逆境信号后通过信号转导过程调节细胞内抗逆相关蛋白的表达, 进而调整自身的生理状态或形态的改变来适应不利环境。因此, 寻找与抗逆相关蛋白对了解植物抗逆机制以及提高植物抗逆性能有着十分重要的意义^[58], 但针对苜蓿耐旱蛋白方面的研究报道较少。

康俊梅等^[59]利用 SDS-PAGE 电泳分析法探讨干旱对供试苜蓿品种叶片可溶性蛋白的变化及其与干旱强度的关系。结果表明, 可溶性蛋白的变化与干旱强度有直接关系, 随着干旱胁迫强度的增加某些可溶性蛋白的变化表现为先增强后减弱; 干旱胁迫诱导蛋白量的变化各异, 抗旱性强的品种能诱导基因更强的表达以适应干旱胁迫, 而抗旱性较弱的品种可能减弱或丧失其自我调节能力, 产生的干旱诱导蛋白量比前者少; 在干旱 15 d 时, 抗旱性强的品种均被诱导产生新的蛋白带, 只有 2 个抗旱性弱的品种出现该谱带; 供试苜蓿品种的抗旱性存在明显的遗传多样性, 其中抗旱

性强的品种是苜蓿抗旱性选育的重要种质资源。Iker Aranjuelo 等^[60]采用双向点用技术从干旱胁迫下的苜蓿叶片中找到了 26 个与对照相异的蛋白质点,通过功能的分析,这些蛋白质点都参与能量合成过程和蛋白质贮藏过程。Lei Z T 等^[61]采用双向电泳技术和高相液相色谱等技术绘制了悬浮培养的蒺藜苜蓿根细胞的蛋白质组图谱,其中鉴定出的与各种生物或非生物胁迫相关的蛋白质占总蛋白的 12%,因此为以后研究苜蓿耐旱相关蛋白提供了参考。

5 研究方向

植物的耐旱性是一种数量性状遗传,受多基因调控,存在多种调控途径并可能发生交叉。在目前大面积长时间干旱情况下,加强植物耐旱机制的研究,结合运用现代育种、生理生态和分子生物学等试验技术,将有助于学科进步和农业可持续发展。虽然近年来关于植物抗旱性的研究很多,但大多还只是在干旱胁迫下生理机制的变化,比较宏观,并且各种生理机制的研究之间缺乏相关性,而植物生长的过程是一个及其复杂的过程,尤其是在逆境条件下,各种物质的相互关系是错综复杂的,目前引起这些作用的分子机制尚未完全研究清楚,因此就简单的说某种物质在逆境条件下的升降,只能作为受到胁迫的参考依据,真正是如何调整的,作用的具体原理,还是一个很大的未知数。在分子水平上,已经实现了将一些与干旱相关的基因导入到植株体内,对于植株的耐旱性能是有了一定的提升,但是转基因植株往往会出现矮化现象,因此单纯的通过转基因来改良品种任重而道远。抗旱不仅仅是水分匮乏的体现,往往盐胁迫、寒冷等都能引起间接性的干旱,因此解决抗旱机制是解决植物逆境生存的关键性问题。因此可以从上述三方面开始综合研究。此外,蛋白质是功能的体现者,但有关苜蓿抗旱蛋白的研究很少,所以采用蛋白质组学的研究方法与技术,加强干旱诱导蛋白的分离纯化及其功能性质的研究是很有必要的。

参考文献

- [1] 耿华珠, 吴永敷, 曹致中. 中国苜蓿[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 1-25.
- [2] 山仑, 张岁岐, 李文尧. 论苜蓿的生产力与抗旱性[J]. 中国农业科技导报, 2008, 10(1): 12-17.
- [3] Clement M, Boncompagni E, De Almeida engler J, et al. Isolation of a novel nodulin; a molecular marker of osmotic stress in *Glycine max* *Bradyrhizobium japonicum* nodule[J]. Plant Cell and Environment, 2006, 29: 1841-1852.
- [4] 赵雅静, 翁伯琦, 王义祥. 植物对干旱胁迫的生理生态响应及其研究进展[J]. 福建稻麦科技, 2009, 27(2): 47-52.
- [5] 李文尧, 张岁岐, 山仑, 等. PEG 模拟旱后复水对紫花苜蓿茎叶生理生态特性的影响[J]. 西北农业学报, 2008, 17(6): 247-252.
- [6] 陈淑义. 水分胁迫对苜蓿生长和品质的影响及生理基础[D]. 泰安: 山东农业大学, 2006.
- [7] 李源, 刘贵波, 高洪文. 苗期干旱胁迫对苜蓿种质生长特性的影响[J]. 河北农业科学, 2010, 14(7): 1-441.
- [8] Petcu E, Schitea M, Girstea V E. The effect of water stress on

cuticular transpiration and its association with alfalfa yield[J]. Romanian agricultural research, 2009.

- [9] 王赫. 黄花苜蓿幼苗抗旱性及遗传多样性研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2006.
- [10] 寇建村, 杨文权, 贾志宽, 等. 不同紫花苜蓿品种叶片旱生结构的比较[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2008, 36(8): 75-80.
- [11] 韩瑞宏, 卢欣石, 高桂娟, 等. 紫花苜蓿(*Medicago sativa*)对干旱胁迫的光合生理响应[J]. 生态学报, 2007, 27(12): 5229-5237.
- [12] Wang W B, Kim Y H, Lee H S, et al. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2009, 47(7): 570-577.
- [13] Erice G, Louahia S, Irigoyen J J, et al. Biomass partitioning, morphology and water status of four alfalfa genotypes submitted to progressive drought and subsequent recovery[J]. J Plant Physiol., 2010, 167(2): 114-120.
- [14] Vasileva V, Kostov O, Vasilev E. Development of lucerne(*Medicago sativa* L.) treated with mineral fertilizer and manure at optimal and water deficit conditions[J]. Commun Agric Appl Biol Sci, 2006, 71(4): 5-17.
- [15] Xu B, Shan L, Li F. Responses of *Medicago sativa* and *Astragalus adsurgens* seedlings growth and water use to soil moisture regime[J]. 应用生态学报, 2005, 16(12): 23, 28-32.
- [16] 韩瑞宏, 高桂娟, 张亚光. 干旱胁迫下苜蓿适应性研究进展[J]. 安徽农学通报, 2009, 15(18): 33-35.
- [17] 王赫, 刘利, 周道玮. 4 种苜蓿属植物幼苗的抗旱性研究[J]. 草地学报, 2010, 18(2): 69-75.
- [18] 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, 2001.
- [19] 任敏, 何金环. 自然干旱胁迫下紫花苜蓿叶片和根部 ABA 的代谢变化[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(4): 1771-1772.
- [20] Suriyagoda L D B, Ryan M H, Renton M, et al. Multiple adaptive responses of Australian native perennial legumes with pasture potential to grow in phosphorus and moisture-limited environments[J]. Oxford Journals Life Sciences annals of botany, 2010, 105(5): 755-767.
- [21] 李波, 贾秀峰, 白庆武, 等. 干旱胁迫对苜蓿脯氨酸累积的影响[J]. 植物研究, 2003, 23(2): 63-65.
- [22] 王艳慧, 王赞, 孙桂枝, 等. 干旱胁迫下胶质苜蓿苗期生理生化特性的研究[J]. 华北农学报, 2008, 23: 65-69.
- [23] Safarnejad A. Morphological and biochemical response to osmotic stress in alfalfa(*Medicago sativa* L.)[J]. Pak. J. Bot., 2008, 40(2): 735-746.
- [24] Irigoyen J J, Einerich D W, Sánchez-Díaz M. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants.[J]. Physiologia Plantarum, 1992, 84(1): 55-60.
- [25] 王延峰, 郝振荣, 常海飞. 壳聚糖处理对苜蓿幼苗抗旱性的影响[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(24): 10322-10323.
- [26] Grouse G, Bournoville R. Water Deficit-Induced Changes in Concentrations in Proline and Some Other Amino Acids in the Phloem Sap of Alfalfa[J]. Plant Physiol., 1996, 11(1): 109-113.
- [27] Naya L, Ladreña R, Ramos J, et al. The Response of Carbon Metabolism and Antioxidant Defenses of Alfalfa Nodules to Drought Stress and to the Subsequent Recovery of Plants[J]. Plant Physiology, 2007, 144: 1104-1114.
- [28] 孟林, 毛培春, 张国芳. 17 个苜蓿品种苗期抗旱性鉴定[J]. 草业科学, 2008, 25(1): 25-29.
- [29] 周兴龙, 杨青川, 王凭青, 等. 苜蓿转基因研究进展[J]. 重庆大学学报, 2005, 28(4): 130-134.
- [30] 刘晓东, 孙广玉, 李威. 干旱对苜蓿叶片葫芦巴碱含量和渗透调节能力的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2009, 27(4): 127-130.
- [31] 赵金梅, 周禾, 王秀艳. 水分胁迫下苜蓿品种抗旱生理生化指标变化及其相互关系[J]. 草地学报, 2005, 13(3): 14-19.
- [32] Wang W B, Kim Y H, Lee H S, et al. Analysis of antioxidant

enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2009, 47: 570-577.

[33] 张新兰. 不同品种苜蓿叶片离体干旱胁迫过程中抗氧化酶活性动态[J]. 草业科学, 2008, 25(2): 81-87.

[34] 徐向南, 易津, 于林清, 等. 苜蓿抗旱性鉴定与生产性能的研究[J]. 内蒙古农业大学学报, 2010, 31(2): 174-180.

[35] McKersie B D, Bowley S R, Harjanto E, et al. Water-Deficit Tolerance and Field Performance of Transgenic Alfalfa Overexpressing Superoxide Dismutase[J]. Plant Physiology, 1996, 111: 1177-1181.

[36] Wang W B, Kim Y H, Lee H S, et al. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2009, 47(7): 570-577.

[37] Bell L W, Williams A H, Ryan M H. Water relations and adaptations to increasing water deficit in three perennial legumes, *Medicago sativa*, *Dorycnium hirsutum* and *Dorycnium rectum*[J]. Plant and Soil, 2007, 1-2 (290): 231-243.

[38] 韩瑞宏, 高桂娟, 张亚光. 干旱胁迫下苜蓿适应性研究进展[J]. 安徽农学通报, 2009, 15(18): 33-35.

[39] 刘玉华, 贾志宽, 史纪安. 旱作条件下不同苜蓿品种光合作用的日变化[J]. 生态学报, 2006, 26(6): 174-183.

[40] Xu L J, Wang B, Sun Q Z. Diurnal dynamics of photosynthetic characteristics of alfalfa on Kerqin sandy land[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2008, 19(10): 2189-2193.

[41] Djilianov D, Dragiiska R, Yordanova R, et al. Physiological changes in osmotically stressed detached genotypes selected in vitro leaves of alfalfa[J]. Plant Science, 1997, 129: 147-156.

[42] Bowler C, Alliotte T, De Loose M, et al. The induction of manganese superoxide dismutase in response to stress in *Nicotiana plumbaginifolia*[J]. EMBO J, 1989(8): 31-38.

[43] McKersie B D, Bowley S R, Harjanto E, et al. Water-Deficit Tolerance and Field Performance of Transgenic Alfalfa Overexpressing Superoxide Dismutase[J]. Plant Physiology, 1996, 111(4): 1177-1181.

[44] 韩丽芳, 张玉发. 烟草 MnSOD 在保定苜蓿中的转化[J]. 生物技术通报, 2004(1): 42-45, 49.

[45] 刘媛, 夏阳, 杨克强, 等. 渗透胁迫下转 BADH 基因苜蓿组培苗的抗性响应[J]. 中国农学通报, 2009, 25(4): 133-136.

[46] Zhang J Y, Broeckling C D, Blancaflor E B, et al. Overexpression of WXP1, a putative *Medicago truncatula* AP2 domain2 containing transcription factor gene, increases cuticular wax accumulation and enhances drought tolerance in transgenic alfalfa (*Medicago sativa*)[J]. Plant Journal, 2005, 42(5): 689-707.

[47] Jiang Q, Zhang J Y, Guo X. Physiological characterization of transgenic alfalfa (*Medicago sativa*) plants for improved drought tolerance.

International Journal of Plant Sciences, 2009, 107(8): 969-978.

[48] Suárez R, Calderón C, Iturriaga G. Enhanced tolerance to multiple abiotic stresses in transgenic alfalfa accumulating trehalose[J]. Crop Science, 2009, 49(5): 1791-1799.

[49] Bao A K, Wang S M, Wu G Q. Over expression of the Arabidopsis H⁺-PPase enhanced resistance to salt and drought stress in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.)[J]. Plant Science, 2009, 176(2): 232-240.

[50] 湛虎. 苜蓿干旱诱导相关基因的克隆和功能分析[D]. 长春: 吉林农业大学, 2008.

[51] Jonak C, Kiegl S, Ligterink W, et al. Stress signaling in plants: A mitogen-activated protein kinase pathway is activated by cold and drought[J]. Plant Biology, 1996, 93: 11274-11279.

[52] Meskiene I, Bogre, Glaser W, et al. MP2C, a plant protein phosphatase 2C, functions as a negative regulator of mitogen-activated protein kinase pathways in yeast and plants[J]. Plant Biology, 1998, 95: 1938-1943.

[53] Luo Y, Liu Y B, Dong Y X, et al. Expression of a putative alfalfa helicase increases tolerance to abiotic stress in Arabidopsis by enhancing the capacities for ROS scavenging and osmotic adjustment[J]. Journal of Plant Physiology, 2009, 166: 385-394.

[54] Oberschall A, DeaÅk M, K ToÈrÈ k, et al. A novel aldose/aldehyde reductase protects transgenic plants against lipid peroxidation under chemical and drought stresses[J]. The Plant Journal, 2000, 24(4): 437-446.

[55] Tapia G, Morales-Quintana L, Inostroza L, et al. Molecular characterization of Lthi7, a gene encoding a Class III endochitinase induced by drought stress in Lotus spp[J]. Plant Biology, 2011, 13(1): 69-77.

[56] 康俊梅, 杨青川, 樊奋成. RAPD 技术分析不同抗旱性苜蓿品种 DNA 的多态性[J]. 生物技术, 2005, 15(6): 37.

[57] Sledge M K, Ray I M, Jiang G. An expressed sequence tag SSR map of tetraploid alfalfa (*Medicago sativa* L.)[J]. Theor Appl Genet, 2005 (111): 980-992.

[58] 阮松林, 马华升, 王世恒. 蛋白质组技术在植物生物学研究中的应用[J]. 遗传, 2006, 28(12): 1633-1648.

[59] 康俊梅, 杨青川, 樊奋成. 干旱对苜蓿叶片可溶性蛋白的影响[J]. 草地学报, 2005, 13(3): 199-202.

[60] Aranjuelo I, Molero I G, Erice G, et al. Plant physiology and proteomics reveals the leaf response to drought in alfalfa (*Medicago sativa* L.)[J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(1): 111-123.

[61] Lei Z T, Elmer A M, Watson B S, et al. A 2-DE Proteomics Reference Map and Systematic Identification of 1367 Proteins from a Cell Suspension Culture of the Model Legume *Medicago truncatula*[D]. MCP Papers in Press, 2005.

Research Progress on Physiological Reaction and Molecular Level under Drought Stress in Alfalfa

MA Qiao-li¹, SUN Yan¹, YANG Qing-chuan²

(1. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193; 2. Institute of Animal Husbandry, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100094)

Abstract: Alfalfa has quite stronger ability to adapt the drought stress by physiological metabolism, structure development and morphology construction. The research of how did alfalfa resist drought is a hot in forage researches. The research is developing from physiology, biochemistry, molecular biology and even more in-depth field, and have gotten many valuable results. This paper reviewed the variety of physiological indexes, genetic engineering and proteomics researches in alfalfa under drought stress, and briefly discussed the problems and future prospects in the research.

Key words: alfalfa; drought stress; physiological reaction; molecular level research