

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2026.06.016

引用格式:侯玉卓,周沁盈,高娅楠,等.苗期筛选结合室内加代快速创制紫花苜蓿耐盐碱新种质[J].草地学报,2026,34(6):2128—2137

HOU Yu-zhuo, ZHOU Qin-ying, GAO Ya-nan, et al. Rapid Creation of Salt-alkali Tolerant Alfalfa Germplasm by Combining Seedling Stage Screening and Indoor Generation Addition[J]. Acta Agrestia Sinica, 2026, 34(6):2128—2137

苗期筛选结合室内加代快速创制紫花苜蓿耐盐碱新种质

侯玉卓^{1#}, 周沁盈^{1#}, 高娅楠¹, 徐明志¹, 刘燕蓉¹, 刘亚玲^{2*}, 张万军^{1*}

(1. 中国农业大学草业科学与技术学院, 北京 100193; 2. 内蒙古草业技术创新有限公司, 内蒙古 呼和浩特 010010)

摘要:为快速培育紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)耐盐碱新种质,本研究以19份紫花苜蓿种质为试验材料,建立了幼苗期耐盐碱苜蓿种质筛选体系;进一步通过室内加代获得第一代杂交种(F1),并对其进行耐盐碱性评价。结果表明:2周龄苜蓿幼苗在 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Na}^+$ ($\text{NaCl}:\text{NaHCO}_3=1:1$, $\text{pH}=8.5$)条件下处理72 h,可有效筛选苜蓿耐盐碱单株。对19份紫花苜蓿种质幼苗期耐盐碱性进行评价,发现‘WL-168HQ’‘大银河’‘Bara416’植株存活率显著高于其他种质。通过调节光质配比,确定FCL5(450~465 nm(白光)66.67%, 450~480 nm(蓝光)6.67%, 615~650 nm(红光)26.66%)光质下苜蓿生长健康且开花诱导率高。结合放蜜蜂授粉,收获到110株耐盐碱植株的F1代半同胞家系种子。对6个F1代半同胞家系植株的耐盐碱性进行评价,确定‘康赛I’‘Bara416’和‘ZN-CT25’的F1代耐盐碱植株比例较未筛选商品种显著提高。本研究为耐盐碱紫花苜蓿新品种的快速培育提供了技术支持和种质资源。

关键词:紫花苜蓿;耐盐碱性;加代繁育;筛选评价

中图分类号:S322.6

文献标识码:A

文章编号:1007-0435(2026)06-2128-10

Rapid Creation of Salt-alkali Tolerant Alfalfa Germplasm by Combining Seedling Stage Screening and Indoor Generation Addition

HOU Yu-zhuo^{1#}, ZHOU Qin-ying^{1#}, GAO Ya-nan¹, XU Ming-zhi¹, LIU Yan-rong¹,
LIU Ya-ling^{2*}, ZHANG Wan-jun^{1*}

(1. College of Grassland Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193;

2. Inner Mongolia Grass Industry Technology Innovation Co., Ltd., Hohhot, Inner Mongolia 010010, China)

Abstract: To accelerate the breeding of salt-alkali-tolerant alfalfa (*Medicago sativa* L.) varieties, in this study 19 alfalfa germplasms were used to establish a seedling-stage screening system for identifying salt-alkali-tolerant materials. By combining generation breeding, salt-alkali-tolerant alfalfa germplasms were rapidly propagated to obtain the first generation hybrid (F1), which were subsequently evaluated for salt-alkali tolerance. The results showed that two-week-old alfalfa seedlings treated with $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Na}^+$ ($\text{NaCl}:\text{NaHCO}_3=1:1$, $\text{pH}=8.5$) for 72 h could be effectively used to screen salt-alkali-tolerant individuals. Evaluation of 19 alfalfa germplasms at the seedling stage revealed that cultivars ‘WL-168HQ’ ‘Galaxie Max’ and ‘Bara416’ exhibited significantly higher salt-alkali tolerance than the others. By adjusting the light quality ratio, the FCL5 light condition (450-465 nm (white light) 66.67%, 450-480 nm (blue light) 6.67%, 615-650 nm (red light) 26.66%) was identified as optimal, which supported healthy growth and high induction efficiency. Under

收稿日期:2025-12-02;修回日期:2026-01-30

基金项目:国家草业技术创新中心(筹)重大创新平台建设专项(CCPTZX2023N05)资助;兵团财政科技计划(2024AB020)资助

作者简介:侯玉卓(2001-),女,汉族,黑龙江大庆人,硕士研究生,主要从事苜蓿转基因育种研究,E-mail:2091156829@qq.com;周沁盈(2001-),女,汉族,四川泸州人,硕士研究生,主要从事苜蓿转基因育种研究,E-mail:1534506283@qq.com;*通信作者 Author for correspondence, E-mail:wjzhang@cau.edu.cn; 314055329@qq.com

FCL5 condition, 110 elite salt-alkali-tolerant plants were subjected to flowering induction and open pollination to produce F1 half-sib family seeds. Evaluation of six F1 half-sib families demonstrated that the proportions of salt-alkali-tolerant plants in ‘Octane’ ‘Bara416’ and ‘ZN-CT25’ families were significantly higher than those of unselected commercial cultivars. This study provides technical support and valuable germplasm resources for the breeding of new salt-alkali-tolerant alfalfa varieties.

Key words: Alfalfa; salt and alkali resistance; generation breeding; screening evaluation

土壤盐碱化限制植物生长发育,降低作物产量及品质,是制约全球农业可持续发展的关键环境问题之一^[1,2]。紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)蛋白质含量高、适口性好,有“牧草之王”的美称,在保障我国草产业高质量发展中发挥重要作用。近年来,由于全球气候变化、不合理灌溉等原因,我国苜蓿主产区(黄河流域以北的干旱和半干旱地区)土壤盐渍化程度不断加剧,造成苜蓿减产、结瘤固氮能力减弱。土壤盐碱化已成为制约我国苜蓿产业发展的主要因素之一^[3,4]。因此,加快培育耐盐碱紫花苜蓿新品种已成为提高盐碱地苜蓿草产量,保障我国草业可持续发展的重要策略之一。

盐碱胁迫下,植物会受到渗透胁迫、离子毒害以及一些次级代谢产物的毒害。在此过程中,植物可通过调节渗透压平衡、离子平衡、活性氧平衡、调控植物体内激素合成及信号转导等方式降低盐胁迫对其细胞造成的伤害^[5]。此外,高浓度Na⁺的积累不仅会加剧细胞内的渗透失衡,还会干扰K⁺等必需离子的吸收,引发离子毒害,具体表现为细胞膜损伤及酶活性抑制^[5-7]。其次,碱性条件(如pH=8.5)会直接破坏细胞膜稳定性并抑制养分的有效性,进一步加剧苜蓿的生理胁迫。植物对盐碱胁迫的敏感性随生长阶段而变化,在根系发育不全的幼苗期最为脆弱^[8,9]。紫花苜蓿种质资源中蕴藏着丰富的耐逆遗传多样性。在自然群体中,单株的萌发率、生物量及离子稳态能力差异显著,这为优异等位基因的定向筛选提供了物质基础^[10,11]。因此,开发幼苗期有效的苜蓿耐盐碱种质筛选体系,快速获得耐盐碱种质,以期加速培育苜蓿耐盐碱品种奠定基础。

苜蓿多为群体品种,现有品种多为杂交、轮回选育而来。育种者通过盐碱地混合选育等方法,已成功培育出‘中苜1号’‘中苜3号’紫花苜蓿等耐盐碱性优异的苜蓿品种^[12]。但新种质创制过程往往需要六年以上的多轮筛选,耗时极长^[13]。其效率主要受制于两个因素:一方面,紫花苜蓿的开花与种子采收时间受地理位置、气候条件、栽培管理及品种选择等多重因素影响^[14,15]。春播苜蓿一般需要4—

6个月才能进入种子成熟采收期,而秋播苜蓿因气温较低、日照时间较短,通常需延至次年6—7月才能产生下一代种子,导致在田间自然条件下每年仅能完成一次种子繁殖周期^[16]。另一方面,在盐碱地筛选出的优异种质,往往需要扦插扩繁后才可用于后续繁育,易错过繁育期导致选育周期延长。为突破这一瓶颈,常采用调控光周期与光质等人工干预手段来促进植物生长发育,加速育种进程、实现世代推进^[17]。对小麦等长日照或中日性作物,延长每日光照时间并结合早期种子采收,可缩短从种子到种子的周期,实现一年多代繁殖^[18]。大豆不育系在人工气候室通过冬季加代技术也能有效缩短育种周期^[19,20]。因此,建立高效耐盐碱种质筛选体系、缩短种子繁殖周期,对加速苜蓿耐盐碱育种效率、促进其遗传改良至关重要。

本研究首先确定了幼苗期苜蓿的盐碱耐受性临界值,据此建立筛选体系,快速筛选出19份苜蓿种质中的耐盐碱单株。进一步通过评价不同光质对苜蓿开花诱导的影响,结合放蜂授粉,建立了室内苜蓿加代育种体系,缩短苜蓿生育周期。整合早期筛选及加代繁育技术,快速获得了耐盐碱性显著提升的F1代单株种子。本研究为加速紫花苜蓿耐盐碱新品种培育提供了有效技术路径,对提升边际土地生产力及保障牧草供应链安全具有重要应用价值。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为19份紫花苜蓿种质,包括实验室自培育新品系4份(BS4, ZN-CT25, ZN-ST36-1, ZN-ST36-2)及15份商品种材料(表1)。紫花苜蓿种子消毒后放于发芽盒培养1周,选取生长一致的幼苗转移至含有0.1×霍格兰营养液(Coolaber,货号: NS1010)的水培盒中,培养1周后进行盐碱处理。

1.2 盐碱筛选浓度确定

‘WL-168HQ’(引自美国,具高产特性)和‘公农1号’(国内主栽、适应性广)^[21]在单盐(NaCl)胁迫

表1 供试紫花苜蓿种质

Table 1 Alfalfa cultivars used in this study

序号 Number	名称 Name	公司 Company
1	中苜1号	北京畜牧兽医研究所提供
2	骑士T	北京正道种业有限公司
3	WL-SALT	北京正道种业有限公司
4	皇后	北京正道种业有限公司
5	康赛I	北京佰青源畜牧业科技发展有限公司
6	公农1号	北京佰青源畜牧业科技发展有限公司
7	公农5号	北京佰青源畜牧业科技发展有限公司
8	福地	北京佰青源畜牧业科技发展有限公司
9	龙牧801	北京百斯特草业有限公司
10	佰苜202	北京佰青源畜牧业科技发展有限公司
11	Bara416	北京正道种业有限公司
12	大银河	北京正道种业有限公司
13	新牧3号	新疆农业大学
14	阿尔冈金	北京正道种业有限公司
15	WL-168HQ	北京正道种业有限公司
16	ZN-CT25	实验室自育种质
17	BS4	实验室自育种质
18	ZN-ST36-1	实验室自育种质
19	ZN-ST36-2	实验室自育种质

迫下耐盐性状存在显著差异^[22],因此,本研究选用这两个种质作为耐盐碱适宜浓度筛选的代表材料。以2周龄幼苗为材料,使用含有0 mol·L⁻¹,0.1 mol·L⁻¹,0.15 mol·L⁻¹,0.2 mol·L⁻¹ Na⁺(NaCl:NaHCO₃=1:1,pH值=8.5)的0.1×霍格兰营养液处理72 h^[23],随后转至不含Na⁺的0.1×霍格兰营养液中恢复培养72 h。统计存活植株数,计算存活率(存活率=存活植株数量/处理植株数量×100%)。每个处理各品种含75株植株,重复3次。

将2周龄WL-168HQ幼苗置于0.1 mol·L⁻¹ Na⁺(NaCl:NaHCO₃=1:1,pH=8.5)的0.1×霍格

兰营养液中培养。培养6 h后,将萎蔫、倒伏的幼苗,记为盐碱敏感型。培养72 h后,仍然保持直立的幼苗记为耐盐碱型。将两类植株转移至不含盐碱的营养液中培养2个月后,再次进行盐碱处理。处理前和处理24 h后收取植株叶片,测定相对含水量、电解质渗透率^[24]。

1.3 不同品种耐盐碱性评价及耐盐碱种质筛选

以19个苜蓿品种2周龄幼苗为材料,用含有0.1 mol·L⁻¹ Na⁺(NaCl:NaHCO₃=1:1,pH=8.5)的0.1×霍格兰营养液处理72 h。将盐碱处理后的幼苗转移至含有0.1×霍格兰营养液的水培盒恢复培养24 h。统计植株存活数,计算存活率。每个品种设置三组重复,每个重复30株幼苗。将存活植株移栽至土壤中置于日光温室中培养。

1.4 耐盐碱种质加代繁育

为确定最适合营养生长和花发育的光照条件,设置了光质配比不同的4种光照模式WL,FCL1,FCL2和FCL5(表3)。各处理光强与光谱质量使用DELIXIDLY-1802光照强度仪在距光源5 cm处测量。植株培养4周后,光周期延长至22 h光照/2 h黑暗以诱导开花。在为期4周的观察期内,统计各处理下的开花植株数量。进入初花期后,在培养架外安装0.5 cm×0.5 cm孔径的防护网,并引入意大利蜜蜂(*Apis mellifera ligustica*)以辅助授粉。授粉期间,监测蜂类活动,根据温度与植株密度调整蜂巢入口大小与位置并在笼内提供糖水补充喂养点以维持蜜蜂活力。4周后,撤去蜂箱,将光周期调整至18 h光照/6 h黑暗,待荚果成熟后单株收获种子,记为F1半同胞家系。

表3 不同光照条件下培养14天诱导苜蓿开花

Table 3 Induction of alfalfa flowering under different light conditions for 14 days

条件 Conditions	光质配比 Light quality ratio	总光照强度 Total light intensity	处理植株数量 Number of plants treated	开花植株数量 Number of flowering plants
WL	450~465nm (白光) 100%	16 000 lx	7	0
FCL2	450~465nm (白光) 93.38%, 450~480nm (蓝光) 0.42%, 615~650nm (红光) 4.75%, 730nm (远红光) 1.45%	11 780 lx	37	35
FCL5	450~465nm (白光) 66.67%, 450~480nm (蓝光) 6.67%, 615~650nm (红光) 26.66%	32 000 lx	22	19
FCL1	450~465nm (白光) 34.9%, 450~480nm (蓝光) 51.53%, 615~650nm (红光) 13.3%, 730nm (远红光) 0.27%	12 032 lx	22	18

1.5 F1代耐盐碱性评价

分别选取每个F1半同胞家系及其母本对应的

商品种为实验材料。以0.1 mol·L⁻¹ Na⁺(NaCl:NaHCO₃=1:1,pH=8.5)营养液处理2周龄幼苗

72 h,统计存活率。实验重复 3 次,每重复 30 株幼苗。

1.6 RT-qPCR 检测

取商品种及 F1 代植株叶片,Trizol 法提取

RNA,反转录获得 cDNA(TaKaRa,货号 RR037A)。以 cDNA 为模板,*MsActin*(JQ028730.1)基因为内参,通过荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测胁迫相关基因 *MsSOD*,*MsPOD*,*MsCAT*,*MsCu/ZnSOD* 的相对表达量^[24, 25],引物信息见表 2。

表 2 试验所用引物序列
Table 2 Primer sequences used in the experiment

基因号 Gene ID	引物名称 Primer name	序列 (5'-3') Sequences (5'-3')
MS.gene013412	MsSOD-F	CGATTCCTCAACCACCGTTAAGC
	MsSOD-R	TTCACCACCTCCTTCACGAACAG
MS.gene003283	MsPOD-F	ACACTGTCTCAAGGTCTTGATTGG
	MsPOD-R	GCAGCAAATGCAGCTTTGAGTTG
MS.gene023670	MsCAT-F	CAAGACCAGACTCTCATCCACAG
	MsCAT-R	CTGAGCTTGAACATGGCACACTG
MS.gene007746	MsCu/Zn-SOD-F	GACCACATTTCAATCCTAACCAG
	MsCu/Zn-SOD-R	AAGGCTCTCCCAATGACTGA

1.5 数据分析

采用 Microsoft Excel 2010 和 SPASS 软件进行数据统计及差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 0.1 mol·L⁻¹ Na⁺(pH=8.5)处理 72 h 可有效筛选苜蓿耐盐碱幼苗

为建立苜蓿耐盐碱性评价体系,本研究比较了 WL-168HQ 与公农 1 号对不同 Na⁺浓度盐碱溶液处理的响应。结果如图 1A 所示,幼苗萎蔫程度随着 Na⁺浓度升高而加剧。处理 24 h,WL-168HQ 在 0.15 mol·L⁻¹和 0.2 mol·L⁻¹ Na⁺条件下的存活率均显著高于公农 1 号。处理 72 h 后,0.15 mol·L⁻¹、0.2 mol·L⁻¹ Na⁺处理组幼苗均全部死亡,0.1 mol·L⁻¹ Na⁺处理组中公农 1 号幼苗全部死亡,而‘WL-168HQ’幼苗仍保持约 20% 的存活率(图 1C)。同时,在 0.1 mol·L⁻¹ Na⁺处理下,‘WL-168HQ’的 Fv/Fm 值高于公农 1 号,光系统受损程度更低(图 1B)。综上所述,研究确定 0.1 mol·L⁻¹ Na⁺(NaCl:NaHCO₃=1:1,pH=8.5)处理 72 h 作为苜蓿耐盐碱单株的筛选条件。

为验证幼苗期筛选苜蓿耐盐碱种质的可靠性,比对了‘WL-168HQ’品种中筛选出的盐碱敏感型和耐受型植株在成株期的盐碱胁迫响应。盐碱处理 24 h 后,盐碱耐受型植株叶片相对含水量仍为 73.36%,显著高于盐碱敏感型植株($P<0.05$)(图 2A)。同时,盐碱耐受型植株的电解质渗漏也显著低于盐碱

敏感型植株($P<0.05$)(图 2B)。因此,幼苗期筛选的盐碱耐受型植株在成株期仍保持较强盐碱耐受性,证实了早期筛选的可靠性。

2.2 19 个不同苜蓿种质中耐盐碱植株筛选

对 19 份苜蓿种质的盐碱耐受性系统评价表明,不同种质在盐碱胁迫下的存活率存在显著差异(图 3)。根据存活率可将种质分为三类:‘WL-SALT’‘公农 1 号’‘ZN-CT25’等为敏感型(存活率<5%);‘BS4’‘阿尔冈金’‘佰苜 202’‘大银河’和‘Bara416’等 14 个品种为耐盐碱型(5%<存活率<25%);‘WL-168HQ’和‘皇后’为强耐盐碱型(存活率>25%)。基于此筛选体系,最终获得 182 株强耐盐碱单株,用于后续通过杂交创制耐盐碱新种质。

2.3 耐盐碱植株加代繁育获得 F1 代种质

为加速耐盐碱紫花苜蓿育种进程,本研究通过调控光质以诱导耐盐碱紫花苜蓿开花。在测试的光质中,WL 无法诱导开花;FCL1 与 FCL2 虽能诱导开花,但 FCL1 花期较短,FCL2 则引起叶缘黄化等胁迫症状(图 4A),相比之下,FCL5 表现最优,能在 10~14 d 内于多个品种中诱导花原基,且植株保持深绿健壮(图 4D)。此外,将处于 FCL2 条件下生长的植株移至 FLC5 条件下,5 天内即可恢复正常生长(图 4B)。FCL5 提供了兼顾营养生长与生殖生长的理想光谱。该结果为后续育种实践中的花期调控提供了关键依据。

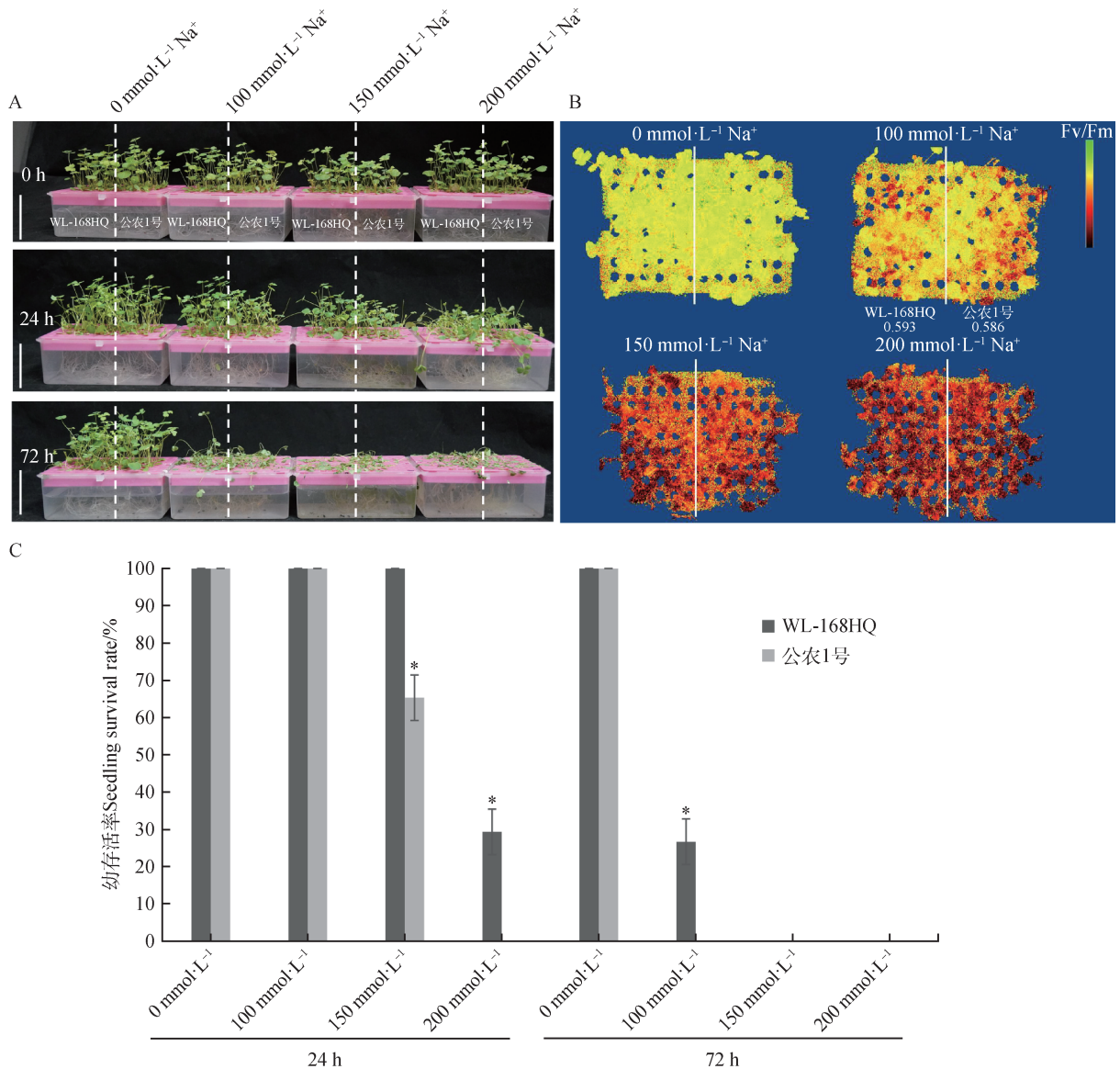


图 1 不同 Na⁺ 浓度盐碱溶液处理幼苗表型

Fig. 1 Determine the appropriate filter concentration

注: A, 含不同浓度 Na⁺ 的盐碱溶液处理苜蓿幼苗不同时间。每个水培盒左部分为‘WL-168HQ’, 右部分为‘公农 1 号’。标尺=60 mm。B, 不同浓度 Na⁺ 盐碱溶液处理 72 h 后叶片损伤程度。C, 幼苗存活率统计

Note: A, Alfalfa seedlings were treated with saline-alkali solution containing different concentrations of Na⁺ for different time. The left part of each hydroponic box is ‘WL-168HQ’, and the right part is ‘Gongnong No. 1’. Scale bar=60 mm. B, The degree of leaf damage after treatment with different concentrations of Na⁺ saline-alkali solution for 72 h. C, Number of seedling survival plants

在 FCL5 条件下, 我们对筛选出的 182 株强耐盐碱植株进行开花诱导(图 4C)。在此过程中, 剔除生长缓慢、花芽分化受阻或开花量不足单株, 剩余 110 株生长高达健壮的植株进行后续实验, 其中包含了除‘佰苜 202’‘公农 5 号’‘骑士 T’及‘福地’以外的 15 个种质。待大部分植株进入初花期后, 挑选株型紧凑、生物量大的优异种质, 移入网室(图 4D, E)。网室内放置蜂箱, 适时通风并补充糖液, 确保蜜蜂在整个花期内的存活率(图 4F)。放蜂 4 周后, 单株苜蓿

材料结荚率可达 80% 以上(图 4G)。随后终止放蜂, 将光周期调整至 18 h 光照/6 h 黑暗, 至种荚成熟(图 4H)。经上述加代培养, 成功收获 110 个单株种子。

2.4 强耐盐碱单株 F1 代耐盐碱性提高

根据前期确定的 19 个商品种之间耐盐碱性差异, 我们选取具有不同耐盐碱性的商品种为材料, 以未筛选种子为对照(CK), 评价相应品种耐盐碱单株 F1 代材料的耐盐碱性。盐碱溶液处理 72 h 后,

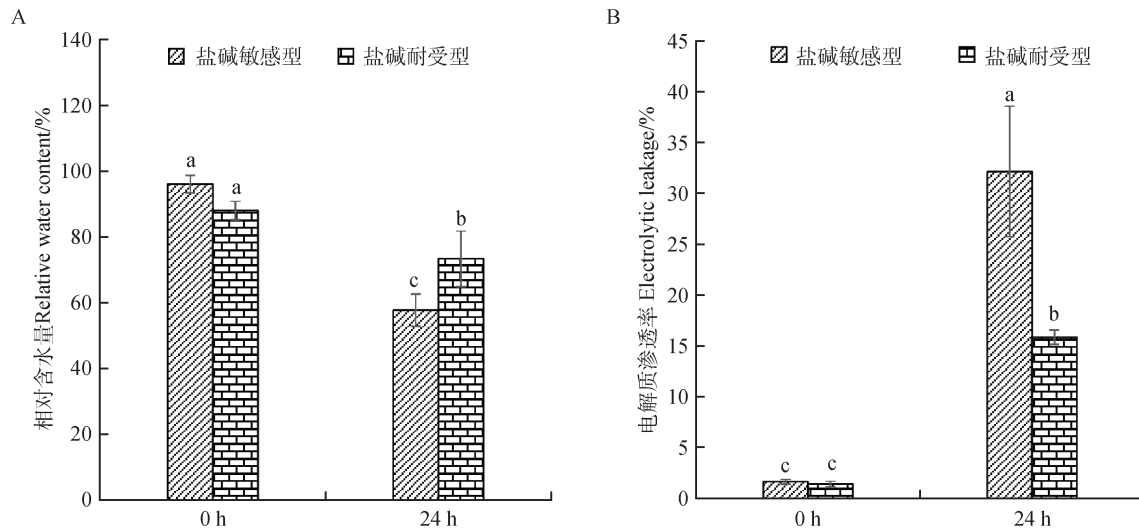


图2 不同盐碱敏感型‘WL-168HQ’植株盐碱处理前后相对含水量(A)及电解质渗透率(B)变化

Fig. 2 Changes in relative water content (A) and electrolyte leakage rate (B) of different salt-alkali sensitive plants under salt-alkali treatment

注: A 相对含水量 (%); B 电解质渗透率 (%); 不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)

Note: A, Relative water content (%); B, Electrolyte leakage (%). Different capital letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$)

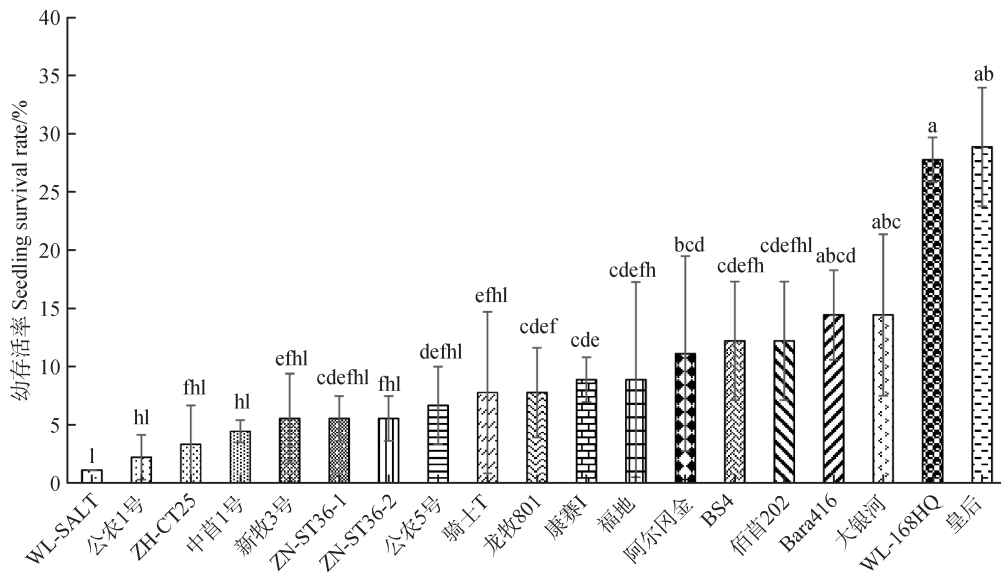


图3 19种紫花苜蓿耐盐碱种质筛选

Fig. 3 Screening of 19 alfalfa germplasms for salt and alkali tolerance

注: 不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)

Note: Different capital letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$)

F1代幼苗存活率显著高于CK, 表现出更强的耐盐碱性。同时 RT-qPCR 结果显示, 耐盐碱 F1 代幼苗中 *MsSOD*, *MsPOD*, *MsCAT*, *MsCu/ZnSOD* 这 4 个胁迫相关基因表达量均高于 CK 植株 (图 5)。

3 讨论

目前, 全球盐碱地面积约为 10 亿公顷, 近 60%

为碱土/盐碱土^[26], 盐碱土壤中盐分通常为 NaCl、Na₂SO₄ 等中性盐与 NaHCO₃、Na₂CO₃ 等碱性盐组成, 通过离子毒害和高 pH 值复合胁迫来破坏植物细胞膜完整性、抑制酶活性并干扰矿质元素吸收, 且 NaHCO₃、Na₂CO₃ 混合盐碱溶液比 NaCl 和 Na₂SO₄ 混合盐溶液对苜蓿幼苗生长的抑制作用更强^[27-29]。在盐碱胁迫下, 紫花苜蓿的生长受限, 形态特征发生改变, 产量和品质均受到影响^[30]。失水萎

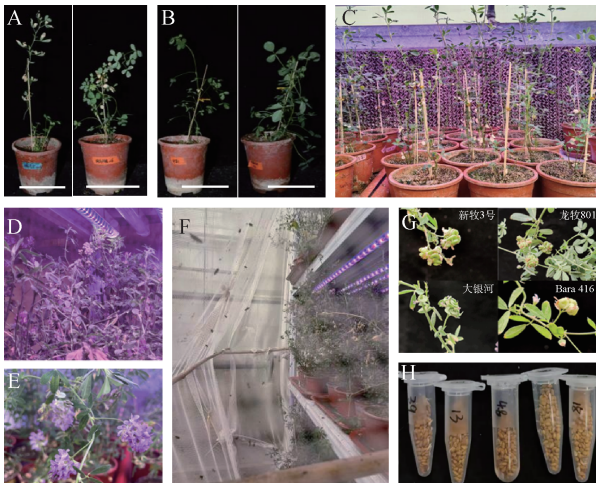


图4 耐盐碱种质加代繁育过程

Fig. 4 The breeding process of saline-alkali tolerant germplasm

注:A,在FCL2条件下生长的苜蓿材料;B,在FCL5条件下生长的苜蓿材料;C,生长4周的苜蓿种质;D-E,在FCL5培养条件下开花的苜蓿种质;F,拉网放蜂;G,不同苜蓿种质结实情况;H,单株收获的成熟种子

Note: A, alfalfa materials grown under FCL2 conditions; B, alfalfa material grown under the condition of FCL5; C, alfalfa germplasm grown for 4 weeks; D-E, alfalfa germplasm flowering under FCL5 culture conditions; F, pull the net to release bees; G, seed setting of different alfalfa germplasms; H, mature seeds harvested per plant

蒹作为综合表型指标,与盐碱胁迫导致的木质素合成抑制、根系构型改变及离子稳态失衡密切相关^[31,32],能够直观反映植株整体抗逆能力。本研究发现,紫花苜蓿幼苗在 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 混合盐碱胁迫后,失水萎蔫植株显著增加,而浓度超过 $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时则导致幼苗全部死亡。这一浓度-效应的非线性关系揭示了碱胁迫的协同作用:碱性盐通过提升环境pH值(本试验 $\text{pH}=8.5$),加剧了 Na^+ 引发的细胞膜氧化损伤,同时 $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$ 通过竞争性抑制降低了 K^+ 、 Ca^{2+} 等必需离子的吸收效率^[33,34]。该机制解释了为何在复合胁迫下,即使盐离子浓度不高也能引发强烈的生理抑制,也说明相较于中性盐,盐碱共同胁迫更能反映紫花苜蓿在实际生产中的耐逆能力。

植物的耐盐碱性是一个多基因调控的适应性状,受自身遗传物质、生长时期和生长环境的影响,紫花苜蓿在不同的生育期对盐碱胁迫的响应存在显著差异,其中萌发期和幼苗期尤为敏感^[35]。基于种子萌发及其吸水特性的评价方法因操作便捷、周期短等特点,常作为筛选耐盐碱种质的首选方式。然而,种子萌发阶段主要依赖胚乳储存的物质维持

代谢,该阶段的盐碱胁迫响应多反映其渗透调节能力与胚根细胞膜稳定性^[36],难以体现高pH环境对叶绿体发育及气孔开闭的抑制作用,筛选精度有限^[37];相比之下,苗期是异养向自养过渡的关键阶段,此时根系构型建立、光合器官发育成熟及离子区隔化机制逐步形成。在此阶段对植株耐盐碱性进行评价,可以更真实地模拟田间盐碱逆境下植株的响应,兼具精准和高效性。基于此,本研究通过 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Na}^+$ ($\text{NaCl}:\text{NaHCO}_3=1:1$, $\text{pH}=8.5$)的复合盐碱溶液处理紫花苜蓿三叶期幼苗,成功分离出盐碱敏感性差异群体。进一步通过成株期胁迫响应与F1代耐受性占比的验证,确认苗期筛选结果与植株整体耐盐碱性呈显著线性相关。本文建立的苗期盐碱筛选体系可在16天内高效准确锁定耐盐碱单株,为紫花苜蓿耐盐碱育种提供了可靠方法。

为了缩短苜蓿从种子到种子的世代周期,我们从促进植株生长、光周期诱导开花、放蜂授粉等方面建立了苜蓿加代技术体系。早期水培育苗不仅便于进行耐盐碱性评价,丰富的营养液组份更加促进了植株生长。光质与光周期长期以来被认为是调控开花的关键因素。在小麦、大麦和水稻等多种作物中均有延长光周期、调控光质促进营养生长至生殖生长转变研究^[36]。本研究在22 h长光照条件下,评价了不同光质对苜蓿生长发育及开花诱导的影响。发现平衡红光/蓝光/远红光的FCL5光源在促进花芽形成的同时维持了苜蓿旺盛的营养生长。同时基于紫花苜蓿虫媒花的特性,通过在适宜温度下($>25^\circ\text{C}$)引入蜜蜂授粉,并结合定期糖源补充与通风调控,可显著提高苜蓿结籽率和杂交授粉均一性^[38]。该系统在多种苜蓿种质中均表现出良好适应性,共15个品种实现了加代,显示其广泛应用潜力,可用于高通量筛选、循环选育以及分子育种技术的结合。未来可进一步探索环境控制的自动化,并评估该流程在其他生殖周期较长的多年生牧草中的推广性。

4 结论

本研究结果显示,在 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Na}^+$ ($\text{NaCl}:\text{NaHCO}_3=1:1$, $\text{pH}=8.5$)处理72 h,可有效分离耐盐碱种质,其中WL-168HQ、康赛I、福地、阿尔冈金、大银河和Bara416等苜蓿种质较其他种质相比

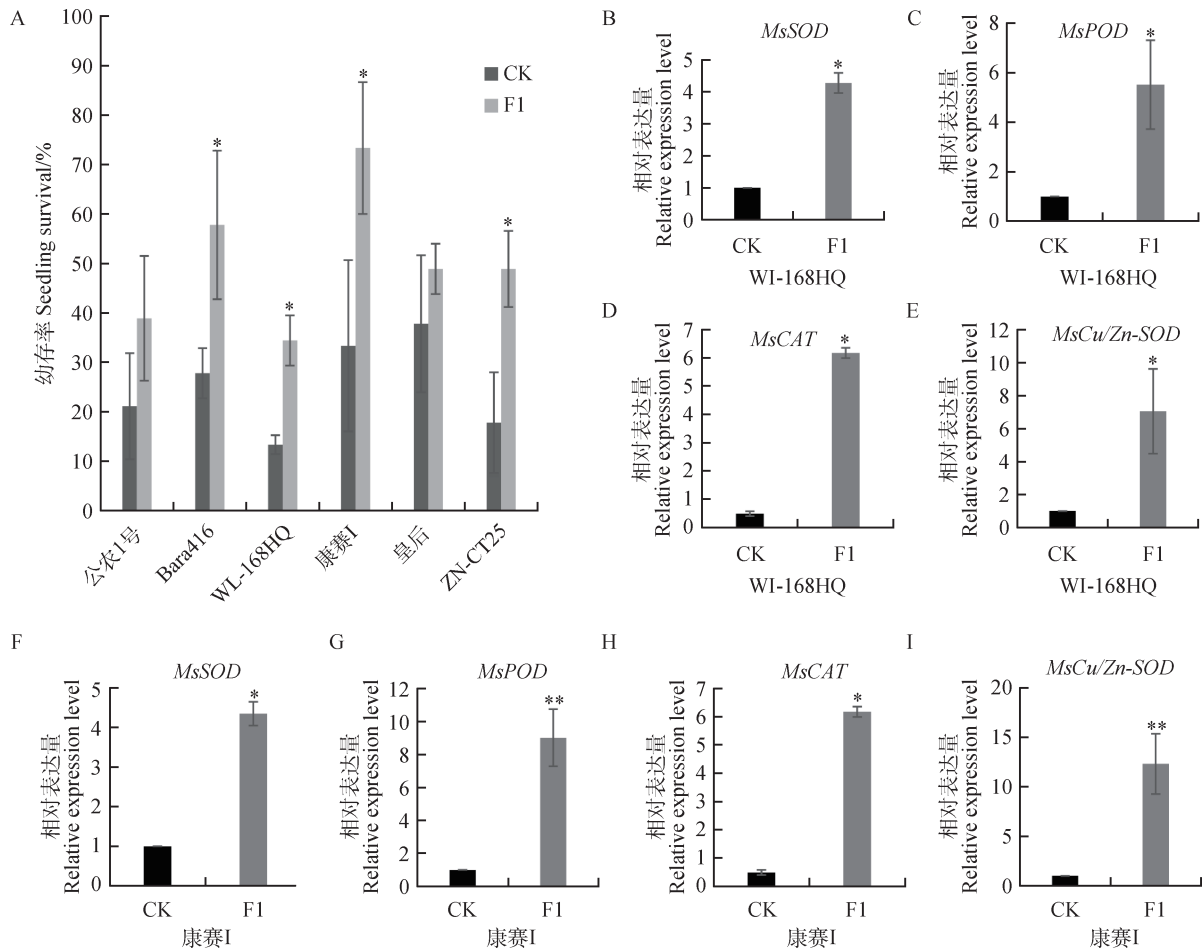


图5 盐碱耐受型单株F1代耐盐碱度提高

Fig. 5 Increased salt and alkali tolerance in F1 generation of salt-alkali tolerant plants

注:A:耐盐碱单株F1代及CK在盐碱溶液处理72 h后的幼苗存活率统计。B~I:耐盐碱单株F1代中盐碱相关基因表达量检测。每个样本设计三个生物学重复,并进行Student's t-test (* $P<0.05$, ** $P<0.01$),以分析差异的统计学意义。误差线代表 $\pm$ SD, $n=3$

Note: A: The saline-alkali tolerance of F1 generation was improved. B-I: Detection of saline-alkali related gene expression in F1 generation of salt-alkali tolerant single plant. Three biological replicates were designed for each sample and the Student's t-test (* $P<0.05$, ** $P<0.01$) was conducted to analyze the statistical significance of differences. Error bars represent $\pm$ SD, $n=3$

表现出更强的耐盐碱性。在FCL5光质条件下对筛选出的耐盐碱种质进行加代繁育,成功获得F1半同胞家系。进一步发现康赛I、Bara416与ZN-CT25家系中F1耐盐碱植株比例显著高于原始商品种,表明早期筛选结合加代繁育能有效提升后代耐盐碱性。综上,本研究建立了“苗期筛选+室内加代”的耐盐碱苜蓿快速育种技术体系。本研究为快速培育耐盐碱苜蓿新品种提供了高效技术路径和重要种质资源,对提升边际土地生产力和保障我国草业可持续发展具有重要意义。

参考文献

- [1] HOPMANS J W, QURESHI A S, KISEKKA I, et al. Critical knowledge gaps and research priorities in global soil salinity. *Advances in Agronomy*, 2021, 169: 1-191
- [2] WANG H, TAKANO T, LIU S K. Screening and evaluation of saline-alkaline tolerant germplasm of rice (*Oryza sativa* L.) in soda saline-alkali soil[J]. *Agronomy*, 2018, 8(10):205
- [3] 边佳辉,刘自扬,李宗英,等. 紫花苜蓿基因工程改良研究进展[J]. *草业科学*, 2020, 37(1):139-155
BIAN J H, LIU Z Y, LI Z Y, et al. Advances in alfalfa improvement using genetic engineering[J]. *Pratacultural Science*, 2020, 37(1):139-155
- [4] 包爱科,杜宝强,王锁民. 紫花苜蓿耐盐、抗旱生理机制研究进展[J]. *草业科学*, 2011, 28(9):1700-1705
BAO A K, DU B Q, WANG S M. Advances on physiological mechanisms of alfalfa resistant to salt and drought[J]. *Pratacultural Science*, 2011, 28(9):1700-1705
- [5] WANG Z Y, YANG Q H, ZHANG D, et al. A cytoplasmic osmosensing mechanism mediated by molecular crowding-sensitive DCP5[J]. *Science*, 2024, 386(6721):eadk9067
- [6] 张娟,姜闯道,平吉成. 盐胁迫对植物光合作用影响的研究进

- 展[J]. 农业科学研究, 2008, 29(3): 74-80
- ZHANG J, JIANG C D, PING J C. Research advances about the effect of salt stress on photosynthesis of plant[J]. Journal of Agricultural Sciences, 2008, 29(3): 74-80
- [7] 冯凯月, 赵鑫焱, 李子妍, 等. 植物响应盐碱胁迫的分子机制研究进展[J]. 生物技术通报, 2024, 40(10): 122-138
- FENG K Y, ZHAO X Y, LI Z Y, et al. Research advances in the molecular mechanisms of plant response to saline-alkali stress[J]. Biotechnology Bulletin, 2024, 40(10): 122-138
- [8] 张延林, 李天银, 马银生, 等. 不同紫花苜蓿品种在河西走廊盐碱地的适应性研究[J]. 草原与草坪, 2015, 35(2): 32-37
- ZHANG Y L, LI T Y, MA Y S, et al. Study on adaptability of different alfalfa varieties to saline-alkali soil in Hexi Corridor, Gansu Province[J]. Grassland and Turf, 2015, 35(2): 32-37
- [9] 张体彬, 展小云, 冯浩. 盐碱地土壤酶活性研究进展和展望[J]. 土壤通报, 2017, 48(2): 495-500
- ZHANG T B, ZHAN X Y, FENG H. Research advance and prospect of soil enzymes activities in saline-alkali soils[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2017, 48(2): 495-500
- [10] BHATTARAI S, LUNDELL S, BILIGETU B. Effect of sodium chloride salt on germination, growth, and elemental composition of alfalfa cultivars with different tolerances to salinity[J]. Agronomy, 2022, 12(10): 2516
- [11] SANDHU D, CORNACCHIONE M V, FERREIRA J F S, et al. Variable salinity responses of 12 alfalfa genotypes and comparative expression analyses of salt-response genes[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 42958
- [12] 杨青川, 孙彦. 中国苜蓿育种的历史、现状与发展趋势[J]. 中国草地学报, 2011, 33(6): 95-101
- YANG Q C, SUN Y. The history, current situation and development of alfalfa breeding in China. Chinese Journal of Grassland, 2011, 33(6): 95-101
- [13] SHI S L, NAN L L, SMITH K. The current status, problems, and prospects of alfalfa (*Medicago sativa* L.) breeding in China[J]. Agronomy, 2017, 7(1): 1
- [14] SHEAFFER C C, BARNES D K, WARNES D D, et al. Seeding-year cutting affects winter survival and its association with fall growth score in alfalfa[J]. Crop Science, 1992, 32(1): cropscl1992.0011183X003200010046x
- [15] 武自念, 魏臻武. 苜蓿花的形态特征及发育过程[J]. 草地学报, 2013, 21(1): 159-166
- WU Z N, WEI Z W. Floral Morphology and Development of Alfalfa[J]. Acta Agrestia Sinica, 2013, 21(1): 159-166
- [16] BRUMMER E C, SHAH M M, LUTH D. Reexamining the relationship between fall dormancy and winter hardiness in alfalfa[J]. Crop Science, 2000, 40(4): 971-977
- [17] 樊文娜, 孙晓格, 倪俊霞, 等. 光周期对不同秋眠型苜蓿光敏色素和内源激素的影响[J]. 草业学报, 2014, 23(1): 177-184
- FAN W N, SUN X G, NI J X, et al. Effect of photoperiod on phytochromes and endogenous hormones of alfalfa with different fall-dormancies[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2014, 23(1): 177-184
- [18] SCHOEN A, WALLACE S, HOLBERT M F, et al. Reducing the generation time in winter wheat cultivars using speed breeding[J]. Crop Science, 2023, 63(4): 2079-2090
- [19] 王敏. 大豆不育系人工气候室冬季加代转育技术[J]. 安徽农学通报, 2013, 19(11): 29, 36
- WANG M. Techniques of adding generations and transferring soybean sterile lines in artificial climate room in winter[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2013, 19(11): 29, 36
- [20] 李晓霞, 金樑, 王晓娟. 栽培苜蓿的繁殖特性和遗传机制及种子生产[J]. 种子, 2008, 27(10): 91-94
- LI X X, JIN L, WANG X J. Reproductive characteristics, genetic mechanism and seed production of alfalfa[J]. Seed, 2008, 27(10): 91-94
- [21] 于洪柱, 王志锋, 金春花, 等. 公农一号紫花苜蓿[J]. 新农业, 2010(6): 36-37
- YU H Z, WANG Z F, JIN C H, et al. Gongnong No. 1 alfalfa[J]. Modern Agriculture, 2010(6): 36-37
- [22] 雷俊锋, 周青平, 汪辉. 不同紫花苜蓿品种幼苗期耐盐性评价[J]. 西南民族大学学报(自然科学版), 2023, 49(2): 119-125
- LEI J F, ZHOU Q P, WANG H. Comprehensive evaluation of seedling growth performance of different alfalfa varieties under salt stress[J]. Journal of Southwest University for Nationalities (Natural Science Edition), 2023, 49(2): 119-125
- [23] 曾怡, 袁嘉苗, 杨静, 等. 23份紫花苜蓿材料萌发期的耐盐性综合评价[J]. 草地学报, 2025, 33(7): 2249-2261
- ZENG Y, YUAN J M, YANG J, et al. Comprehensive evaluation of salt tolerance of 23 alfalfa materials during seeds germination stage[J]. Acta Agrestia Sinica, 2025, 33(7): 2249-2261
- [24] LIN S W, YANG J, LIU Y R, et al. MsSPL12 is a positive regulator in alfalfa (*Medicago sativa* L.) salt tolerance[J]. Plant Cell Reports, 2024, 43(4): 101
- [25] 朱晨晨, 史昆, 何沁坤, 等. 混合盐碱胁迫对紫花苜蓿幼苗生理和基因表达的影响[J]. 草地学报, 2024, 32(4): 1044-1054
- ZHU C C, SHI K, HE Q K, et al. Effects of mixed saline-alkali stress on physiology and gene expression of alfalfa seedlings[J]. Acta Agrestia Sinica, 2024, 32(4): 1044-1054
- [26] 吴绪海, 李家亮, 谢黎栋, 等. 苏打盐碱地水田治理技术研究进展[J]. 农业资源与环境学报, 2026, 43(1): 1-13
- WU X H, LI J L, XIE L D, et al. Advances in amelioration technologies of sodic/saline sodic paddy fields of rice[J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2026, 43(1): 1-13
- [27] 王小山, 朱平华, 鲍国成, 等. 盐碱胁迫对紫花苜蓿根、茎和叶重要养分离子平衡的影响[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(7): 190-195
- WANG X S, ZHU P H, BAO G C, et al. Effects of saline-alkali stress on ion balance of important nutrients in alfalfa roots, stems and leaves[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2013, 41(7): 190-195
- [28] 王宇璇, 李旭光, 张弛, 等. 植物修复盐碱地的作用机制[J]. 河北农业科学, 2024, 28(6): 22-27
- WANG Y X, LI X G, ZHANG C, et al. Mechanism of phy-

- to remediation of saline alkali land[J]. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 2024, 28(6): 22-27
- [29] 张志莹, 侯文静, 吕卫东, 等. 中苜一号紫花苜蓿对混合盐和碱胁迫的生理响应[J]. 草原与草坪, 2023, 43(2): 126-132
ZHANG Z Y, HOU W J, LYU W D, et al. Physiological response of Zhongmu No. 1 alfalfa to mixed salt and alkaline stress[J]. Grassland and Turf, 2023, 43(2): 126-132
- [30] 苏立娜, 麻冬梅, 李嘉文, 等. 外源褪黑素对盐胁迫下两种紫花苜蓿生理及光合特性的影响[J]. 草地学报, 2023, 31(3): 726-732
SU L N, MA D M, LI J W, et al. Implications of exogenous melatonin on the physiological and photosynthetic characteristics of the seedlings of two alfalfa varieties[J]. Acta Agrestia Sinica, 2023, 31(3): 726-732
- [31] 卢昆丽, 尹燕桦, 王振林, 等. 施氮期对小麦茎秆木质素合成的影响及其抗倒伏生理机制[J]. 作物学报, 2014, 40(9): 1686-1694
LU K L, YIN Y P, WANG Z L, et al. Effect of nitrogen fertilization timing on lignin synthesis of stem and physiological mechanism of lodging resistance in wheat [J]. Acta Agronomica Sinica, 2014, 40(9): 1686-1694
- [32] 滕祥勇, 王金明, 李鹏志, 等. 水稻抗倒伏性的影响因素及评价方法研究进展[J]. 福建农业学报, 2021, 36(10): 1245-1254
TENG X Y, WANG J M, LI P Z, et al. Advances on studies relating to lodging resistance of rice plant[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2021, 36(10): 1245-1254
- [33] ZHANG H, LIU X L, ZHANG R X, et al. Root damage under alkaline stress is associated with reactive oxygen species accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1580
- [34] YANG S, XU Y Q, TANG Z Z, et al. The impact of alkaline stress on plant growth and its alkaline resistance mechanisms[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(24): 13719
- [35] 王娅琳, 魏琳, 李娜, 等. 3种牧草种子萌发期耐盐性综合评价[J]. 草业科学, 2023, 40(12): 3104-3113
WANG Y L, WEI L, LI N, et al. Comprehensive evaluation of salt tolerance of three forage seed varieties during germination [J]. Pratacultural Science, 2023, 40(12): 3104-3113
- [36] ZHANG H X, IRVING L J, MCGILL C, et al. The effects of salinity and osmotic stress on barley germination rate: sodium as an osmotic regulator[J]. Annals of Botany, 2010, 106(6): 1027-1035
- [37] 唐芳, 侯瑞虹, 高佳荷, 等. 不同种源10份野生花苜蓿材料萌发期和幼苗期耐盐性评价[J]. 中国草地学报, 2024, 46(6): 10-21
TANG F, HOU R H, GAO J H, et al. Evaluation of salt tolerance in germination and seedling stage of 10 wild *Medicago ruthenica* L. from different provenances[J]. Chinese Journal of Grassland, 2024, 46(6): 10-21
- [38] HAEDO J P, MARTÍNEZ L C, GRAFFIGNA S, et al. Managed and wild bees contribute to alfalfa (*Medicago sativa*) pollination [J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2022, 324: 107711

(责任编辑 彭露茜)