

研究报告 Original Papers

NaCl胁迫对蒺藜苜蓿生长发育及共生结瘤的影响

李梅¹, 潘喆云², 李宁宁¹, 罗利¹, 于亮亮^{1,*}¹上海大学生命科学学院, 上海市能源作物育种及应用重点实验室, 上海200444²上海大学附属中学, 上海200444

摘要: 采用温室盆栽试验, 研究不同浓度(0、50、100、150、200和250 mmol·L⁻¹) NaCl处理对蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)生长发育及共生结瘤的影响。结果表明: 在共生固氮和施加氮肥两种条件下, 低浓度(50 mmol·L⁻¹) NaCl处理对苜蓿生长发育均没有明显影响; 随着NaCl浓度的升高, 苜蓿生长受到明显的抑制, 且抑制程度与NaCl浓度呈正相关; 对比两种条件下苜蓿生长受盐胁迫的程度发现, 施氮处理的苜蓿的各项生长指标普遍优于共生固氮的苜蓿, 表明后者对盐胁迫更敏感。进一步研究NaCl胁迫对苜蓿共生结瘤的影响发现盐浓度 ≥ 100 mmol·L⁻¹时, 随着浓度的升高, 根瘤数量不断减少, 根瘤不断变小, 同时固氮区细胞数量也相应减少。可见, 苜蓿能够耐受低浓度的盐胁迫, 但中高浓度(≥ 100 mmol·L⁻¹)盐胁迫显著抑制了其生长发育及共生结瘤过程, 这一结果为盐地苜蓿育种及栽培提供理论指导。

关键词: 苜蓿; NaCl胁迫; 生长; 共生结瘤

土壤盐渍化是制约农业可持续发展的重要环境和生态问题(Chinnusamy等2005)。由于过度施肥、不合理灌溉以及气候变化等因素的影响, 全球盐渍化土壤面积仍在不断扩大(Kovda 1983)。据杨真和王宝山(2015)报导, 我国盐渍土面积达 9.9×10^7 hm², 为世界盐碱地大国之一。盐胁迫是影响植物在盐渍化土壤中正常生长的首要因素。盐胁迫能够引起植物细胞渗透势失衡、离子紊乱、活性氧积累, 导致植物光合作用、蛋白合成、脂类代谢等生理过程紊乱, 最终生长受阻, 甚至死亡(杨少辉等2006)。有研究表明, 盐渍土中致害盐类以NaCl为主(郭慧娟等2012)。高浓度的Na⁺竞争性地抑制植物对其他阳离子(K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺等)的吸收, 从而造成离子失衡, 严重影响植物的生长发育(杨少辉等2006; 於朝广等2016)。

苜蓿(*Medicago sativa*)是一种优质的豆科牧草, 蛋白含量高, 适口性好, 被誉为“牧草之王”(曹宏等2011)。其一年生近缘种蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)由于具有基因组小、生长期短、自花授粉、易于遗传转化等特点, 被选为豆科植物研究的模式植物(陈爱民等2006; 魏臻武和盖钧镒2008)。对蒺藜苜蓿研究获得的生理及遗传学信息往往可以直接应用于苜蓿及其他近缘豆科作物栽培及育种实践。值得注意的是, 作为豆科模式植物, 蒺藜苜蓿能够与根瘤菌共生固氮, 为自身生长

发育提供氮源。共生固氮体系的建立起始于根瘤菌和宿主植物间的分子信号交流, 由根瘤菌分泌的结瘤因子诱导植物根毛变形卷曲, 同时根皮层细胞分裂形成根瘤原基; 根瘤菌通过侵染线的输送进入根瘤原基并进一步分裂分化成为类菌体; 在成熟根瘤中, 类菌体表达的固氮酶将游离的氮还原成氨供宿主植物所用(Oldroyd等2011; Oldroyd 2013)。因此豆科植物的根瘤被称为天然的“氮肥工厂”。

随着我国畜牧业的快速发展, 对优质牧草的需求与日俱增, 若能利用盐渍土壤规模种植苜蓿, 既能增加其产量, 又能改良土壤, 保护生态环境。目前, 国内外多个实验室对盐胁迫下苜蓿的光合作用(李紫薇等2014)及多个生理生化指标(陈爱萍等2011)以及不同条件下盐胁迫对苜蓿生长的影响(Wang和Han 2009)做了多方面的研究。近期有研究表明, 多个调控植物耐盐胁迫蛋白(如DELLA)的基因同时也参与共生(Jin等2016), 但对共生固氮条件下, 盐胁迫对苜蓿固氮根瘤的形成与发育以及固氮能力的影响鲜有报道。本文采用不同浓度NaCl溶液处理共生固氮及施氮条件下生长的蒺藜苜蓿, 重点研究了盐胁迫对苜蓿根瘤的形成与发

收稿 2018-08-01 修定 2018-08-30

资助 上海市地方高校能力建设项目(15230500100)和国家自然科学基金(31500197)。

* 通讯作者(yuliangliang@shu.edu.cn)。

育以及固氮能力的影响,同时分析比较了两种条件下苜蓿的生长发育情况,为盐地苜蓿育种及栽培提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 实验材料及其处理

1.1.1 实验材料

供试材料为蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula* Gaertn.) R108生态型。接种的根瘤菌为苜蓿中华根瘤菌(*Sinorhizobium meliloti*) 2011菌株(Sm2011)。

1.1.2 实验材料的处理

将随机挑选的蒺藜苜蓿种子用浓硫酸处理6 min以破坏种皮,无菌水快速洗净后再用10%次氯酸钠溶液消毒3 min,用无菌水多次漂洗干净,再将种子放在无菌水中吸胀1 h左右。最后将种子平铺在1%水琼脂平板上,于4°C冰箱中暗处理2 d,再将平板倒置,于28°C培养箱中过夜培养至幼根生长至1 cm左右即可移栽至培养基质(蛭石:珍珠岩=3:1)中,于25°C,光周期为16 h光照/8 h黑暗的温室条件下生长。

1.2 实验方法

1.2.1 NaCl处理

萌发的苜蓿种子移至培养基质中5 d后接种根瘤菌Sm2011 ($OD_{600}=0.02$)或施加 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{KNO}_3$,与此同时进行第一次NaCl处理。首先配制 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl母液,再按照0、50、100、150、200和250 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 6个浓度配制工作溶液并处理相应的苜蓿幼苗,每个浓度设置3次生物学重复。以后每隔1周再用相应浓度的NaCl溶液处理1次,至第3周为止。

1.2.2 苜蓿生长发育及共生结瘤相关指标的测定

将NaCl处理3周后的苜蓿植株取出,用清水小心洗净根上附着的培养基质,统计单株存活率后再测量株高、根长以及地上部分鲜重等生长发育指标。接种根瘤菌的苜蓿除了上述指标外还统计单株根瘤数,并用实体显微镜(Zeiss Stemi 508)对根瘤进行拍照;选取代表性根瘤做石蜡切片,并于显微镜(Zeiss Axio Scope A1)下观察拍照。基于以上照片,用Image J软件(National Institute of Health, Bethesda, USA)测量根瘤的长度和纵切面积,并统计根瘤固氮区细胞层数。

1.2.3 根瘤的石蜡切片制备

取各处理的代表性根瘤用FAA固定后,按照

于亮亮(2014)描述的方法进行脱水、浸蜡等操作。将石蜡包埋的材料用切片机(Leica RM2235)切成 $10\text{ }\mu\text{m}$ 厚的薄片,再用0.05%甲苯胺蓝染液染色5 min,脱蜡后用中性树胶封片。

1.2.4 数据分析

实验数据均为3个生物学重复的平均值。利用Excel和SPSS 17.0软件进行数据的处理及作图。数据间的比较采用单因素方差分析(ANOVA, $P<0.01$)。

2 实验结果

2.1 不同浓度NaCl处理对苜蓿生长的影响

2.1.1 不同浓度NaCl处理对共生条件下苜蓿生长的影响

苜蓿中华根瘤菌Sm2011能与蒺藜苜蓿互作形成高效的共生系统,为宿主提供生长所需的氮素。采用不同浓度NaCl溶液处理接种Sm2011后的苜蓿幼苗并在温室培养3周。与对照(图1-A)相比,低浓度($50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)盐处理对苜蓿生长没有明显影响(图1-B),但随着盐浓度的升高,苜蓿的生长受到明显抑制,表现为植株矮化,生物量减少(图1-C~F),同时存活率逐步下降(表1)。对植株的株高、根长以及鲜重(地上部分)等生长指标统计发现, $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理对苜蓿生长无显著影响,当盐浓度 $\geq 100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时上述生长指标随着浓度的增加而不断降低(图2),表明在共生固氮条件下苜蓿能够耐受低浓度的盐胁迫,当盐浓度高于一定阈值时其生长受到严重胁迫,甚至死亡。

2.1.2 不同浓度NaCl处理对施氮条件下苜蓿生长的影响

采用外源施加氮肥($10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{KNO}_3$)的方法替换接种根瘤菌以研究非共生固氮条件下盐胁迫对苜蓿生长的影响。与对照(图1-G)相比, $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理不影响植株生长(图1-H),但随着盐浓度的不断升高,苜蓿生长的受抑制程度不断加深(图1-I~L),且植株存活率逐步下降(表1)。生长指标统计分析发现,低浓度($50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)盐处理对苜蓿生长无显著影响,当盐浓度 $\geq 100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时苜蓿的株高、根长及鲜重均随着浓度的增加而逐渐降低(图2)。以上结果表明,与共生条件下苜蓿生长受盐胁迫的趋势类似,施氮条件下苜蓿能够耐受低浓度的盐胁迫,但其生长受到高浓度盐的抑制。

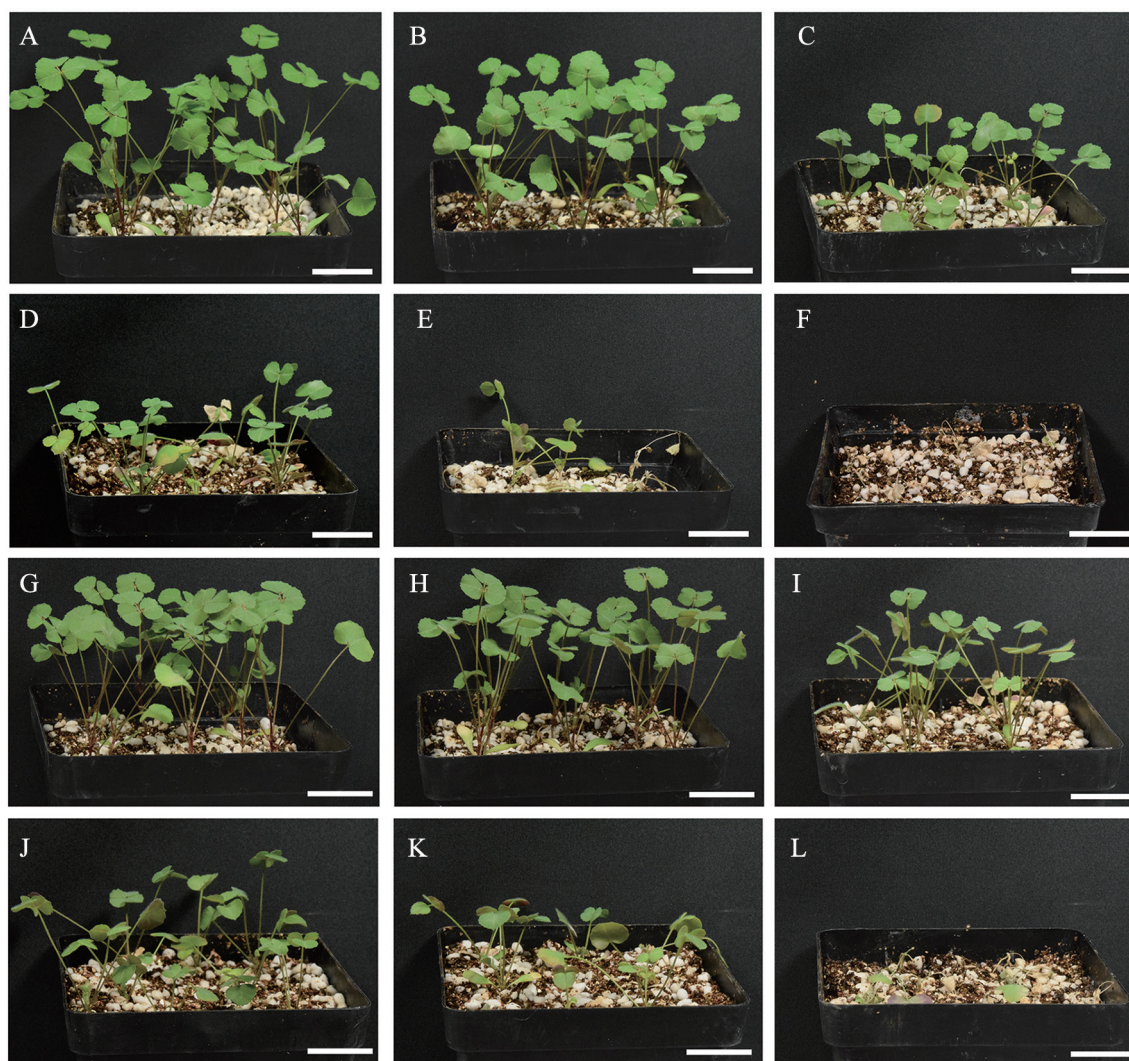


图1 不同浓度NaCl处理对共生及施氮条件下苜蓿生长的影响

Fig.1 Effects of different concentrations of NaCl on the growth of medicago under symbiotic or nitrogen-supplying conditions

A、B、C、D、E和F分别为经0、50、100、150、200和250 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl溶液处理过的共生条件下生长3周的蒺藜苜蓿植株; G、H、I、J、K和L分别为经0、50、100、150、200和250 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl溶液处理过的施氮($10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ KNO}_3$)条件下生长3周的蒺藜苜蓿植株。标尺为2 cm。

表1 不同浓度NaCl处理后苜蓿植株的存活率

Table 1 Survival rate of medicago plants under the treatment of different concentrations of NaCl

| NaCl浓度/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ | 苜蓿植株存活率/% | |
|---|-----------|----------------|
| | Sm2011 | KNO_3 |
| 0 | 100 | 100 |
| 50 | 100 | 100 |
| 100 | 93.8 | 93.3 |
| 150 | 81.8 | 87.5 |
| 200 | 50 | 81.3 |
| 250 | 0 | 21.4 |

Sm2011: 共生条件; KNO_3 : 施氮条件。图2同此。

2.1.3 NaCl处理对两种条件下苜蓿生长影响的比较

虽然不同浓度NaCl处理对共生固氮和施加氮肥两种条件下苜蓿生长的抑制作用总体趋势一致,但抑制的程度存在显著差异。由表1可见,当盐浓度 $\leq 150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时两种条件下苜蓿植株存活率相差不大;当盐浓度达到 $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,施氮组仍有81.3%的存活率,而共生固氮组的存活率只有50.0%;而当盐浓度升高到 $250\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,施氮组尚有21.4%的存活率,而共生固氮组已全部死亡。另一方面,统计植株生长指标亦显示,盐浓度 $\geq 100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($250\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 除外)时施氮组相较于共生

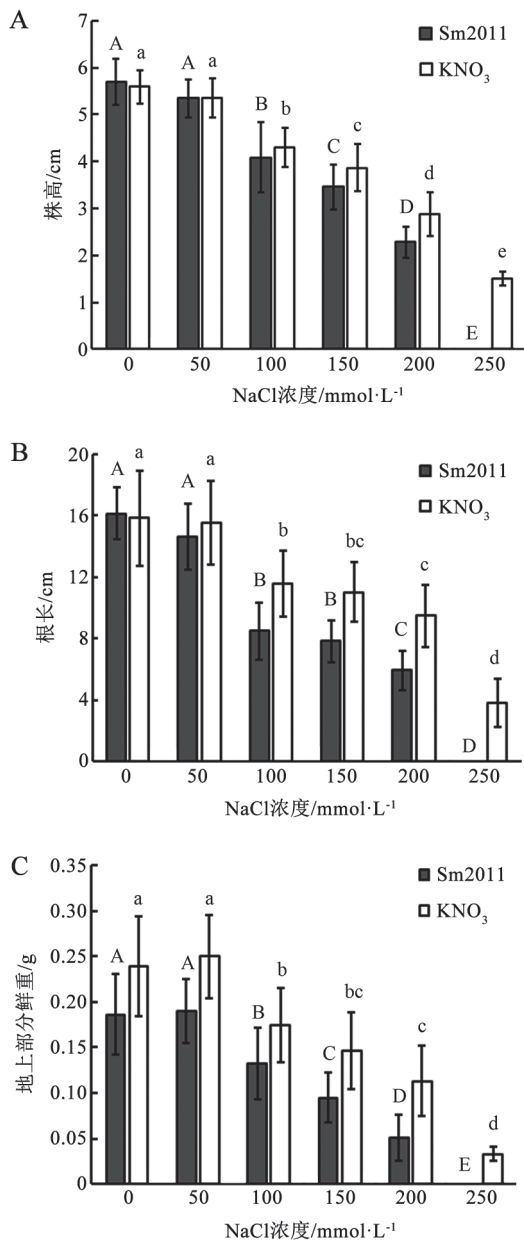


图2 共生固氮和施氮条件下生长3周的苜蓿植株的株高、根长和鲜重

Fig.2 Shoot height, root length, and fresh weight of medicago plants grown under symbiotic and nitrogen-supplying conditions for 3 weeks

图中同种颜色的柱状图上不同字母表示存在统计学显著差异 ($P < 0.01$)。

固氮组株高增加5.1%~25.9%，根长增加36.5%~59.4%；而在几乎所有盐浓度下，施氮组相较于共生固氮组植株鲜重增加了30.8%~120.0% (图2)。由此可见，施加氮肥比根瘤菌共生固氮使苜蓿更耐受盐胁迫。

2.2 不同浓度NaCl处理对苜蓿共生结瘤的影响

2.2.1 不同浓度NaCl处理对苜蓿根瘤数量的影响

接种根瘤菌Sm2011三周后统计苜蓿的单株结瘤数。由图3可见，低浓度(50 mmol·L⁻¹)盐处理相较于对照组根瘤数差异不显著；中浓度(100、150 mmol·L⁻¹)盐处理则显著抑制了根瘤形成，根瘤数较对照组降幅分别为34.5%和37.4%；高浓度(200、250 mmol·L⁻¹)盐处理则进一步抑制了根瘤形成，根瘤数较对照组降幅分别为63.6%和64.3%。由此可见，苜蓿根瘤形成过程能够耐受低浓度盐胁迫，但高浓度会强烈抑制根瘤形成，根瘤数量大幅减少。

2.2.2 不同浓度NaCl处理对苜蓿根瘤大小及固氮细胞数量的影响

取接种根瘤菌3周后的苜蓿主根根瘤于显微镜下观察拍照(图4)，并将各处理的代表性根瘤进行石蜡包埋切片(根瘤纵切，图5)，拍照统计根瘤大小。结果显示，对照组的根瘤呈圆柱形(图4-A和5-A)，为典型的三周龄苜蓿根瘤；与之相比，低浓度(50 mmol·L⁻¹)盐处理下的根瘤形状相似，但明显变短(图4-B和5-B)，其根瘤长度减少了22.2%，同时根瘤纵切面积相应减少19.7% (表2)。随着盐浓度的升高，所结根瘤也越来越小。150 mmol·L⁻¹盐处理下的根瘤发育缓慢，呈三角形(图4-D和5-D)，其长度和面积比对照组分别减少了44.3%和53.0% (表2)；当用250 mmol·L⁻¹的高浓度盐处理时，根瘤呈球形(图4-F和5-F)，其长度和面积降幅分别达61.6%

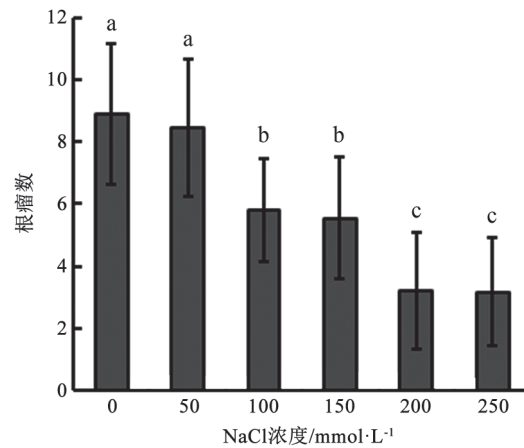


图3 不同浓度NaCl处理对苜蓿根瘤数量的影响

Fig.3 Effects of different concentrations of NaCl on the number of medicago nodule

图中不同字母表示存在统计学显著差异 ($P < 0.01$)。

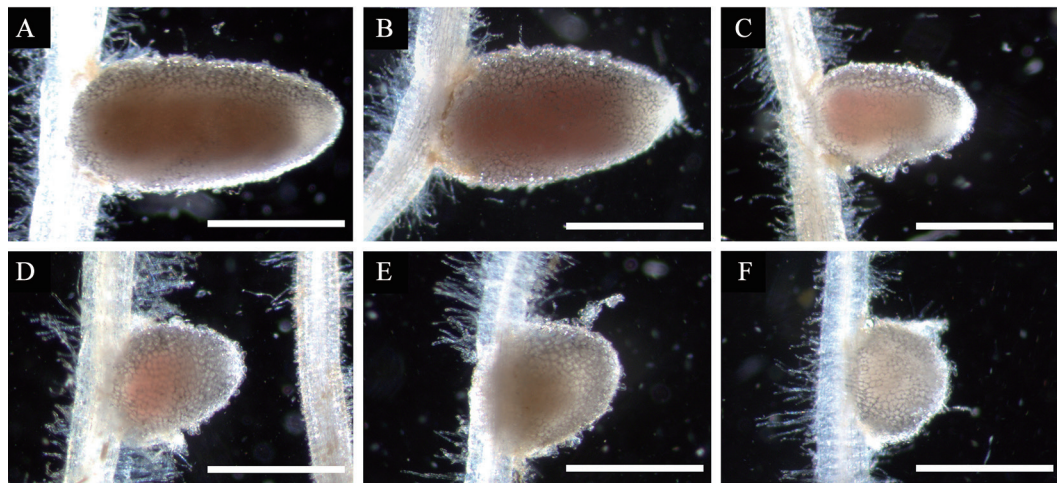


图4 不同浓度NaCl处理对苜蓿根瘤大小的影响

Fig.4 Effects of different concentrations of NaCl on the size of medicago nodule

A、B、C、D、E和F分别为在0、50、100、150、200和250 mmol·L⁻¹ NaCl溶液处理下生长3周的苜蓿根瘤。标尺为1 mm。

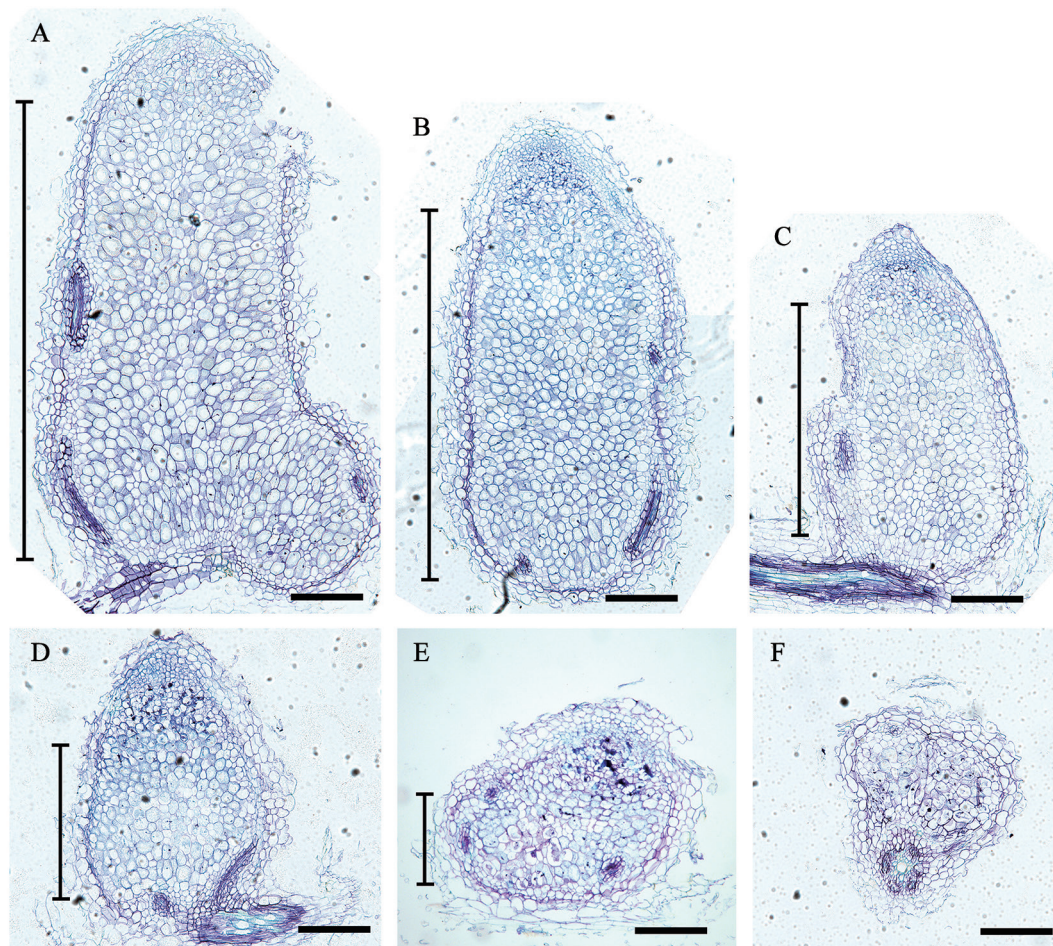


图5 不同浓度NaCl处理下生长3周的苜蓿根瘤纵切比较

Fig.5 Comparison of longitudinal sections of 3-week-old medicago nodules treated with different concentrations of NaCl

A、B、C、D、E和F分别为0、50、100、150、200和250 mmol·L⁻¹ NaCl溶液处理下生长3周的苜蓿根瘤的石蜡切片(纵切)。区段线指示的根瘤的固氮区细胞。标尺为200 μm。

表2 不同浓度NaCl处理后3周苜蓿根瘤的长度、纵切面积及固氮区细胞层数

Table 2 Length, longitudinal section area, and cell layer of fixation zone of 3-week-old nodules treated with different concentrations of NaCl

| NaCl浓度/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ | 根瘤长度/mm | 根瘤纵切面积/ mm^2 | 根瘤固氮区细胞层数 |
|---|------------------------|-------------------------|-----------------------|
| 0 | 1.85±0.27 ^a | 1.32±0.38 ^a | 34.4±3.3 ^a |
| 50 | 1.44±0.15 ^b | 1.06±0.27 ^b | 29.8±3.3 ^b |
| 100 | 1.10±0.09 ^c | 0.69±0.16 ^c | 22.3±3.0 ^c |
| 150 | 1.03±0.12 ^c | 0.62±0.11 ^{cd} | 14.3±1.4 ^d |
| 200 | 0.94±0.21 ^c | 0.58±0.20 ^{cd} | 11.3±2.4 ^e |
| 250 | 0.71±0.14 ^d | 0.44±0.11 ^d | 3.7±1.4 ^f |

表中同一生理指标不同字母表示存在统计学显著差异($P<0.01$)。

和66.7% (表2)。由此可见, 根瘤大小对盐胁迫十分敏感, 低浓度盐处理即能抑制根瘤的生长, 而高浓度盐强烈抑制根瘤生长, 甚至使其发生畸变。

与根瘤大小相比, 固氮区细胞数量这一指标能更直接反映根瘤的固氮水平。固氮细胞占据了成熟根瘤的主体部分, 其大量积累的豆血红蛋白为根瘤菌创造了微氧环境从而使固氮酶能够高效表达(Downie 2005)。由图4和5可知, 随着盐浓度的升高, 根瘤的固氮区细胞数量递减。统计结果显示, 50、100、150、200和250 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐处理下的根瘤固氮区细胞层数相对对照降幅分别为13.4%、35.2%、58.4%、72.4%和91.6% (表2)。值得注意的是, 在250 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的高盐胁迫下, 部分植株虽然能够结少量小根瘤, 但根瘤中几乎没有成熟的固氮细胞(图4-F和5-F), 因此无法固氮。可见, 盐胁迫在影响根瘤数量和大小同时, 还抑制了固氮细胞的形成和发育, 从而直接干扰了共生固氮过程。

3 讨论

生物量和存活率是植物对盐胁迫反应的综合体现, 也是评价植物耐盐性的关键指标(李悦等2011; 郭建荣等2017)。本试验研究了在共生固氮和施加氮肥(KNO_3)两种条件下, 不同浓度(0、50、100、150、200和250 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) NaCl处理对蒺藜苜蓿生长发育及共生结瘤的影响。结果显示, 盐胁迫对两种条件下苜蓿生长的影响趋势相似, 即50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理下的苜蓿与对照相比没有显著差异; 但随着NaCl浓度的不断升高, 苜蓿生长受到明显的抑制, 且抑制程度与NaCl浓度呈正相关, 具体表现为: 盐浓度越高, 植株存活率越低, 株高、根长及鲜重等生长指标越低。进一步比较两种条

件下苜蓿生长受盐胁迫的程度发现, 在 $\geq 100 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的所有NaCl浓度下, 施氮处理的苜蓿的长势明显好于共生固氮的苜蓿, 前者的存活率及各项生长指标普遍优于后者, 表明后者对盐胁迫更敏感。这一结果不难解释, 施氮的苜蓿由于有着充足的氮肥供应, 其所受到的胁迫只有盐胁迫这一单一因素; 而共生固氮的苜蓿不光宿主受到盐胁迫, 与其共生的根瘤菌亦受到胁迫, 导致根瘤数量减少、根瘤变小且固氮能力下降, 因此共生固氮的苜蓿同时遭受盐和氮素缺乏的双重胁迫, 其生长发育显著劣于施氮的苜蓿。

蒺藜苜蓿作为豆科模式植物能够与特定的根瘤菌共生固氮, 其所结根瘤为典型的不定型根瘤(Ferguson等2010)。由于具有共生固氮这一特殊生理功能, 在盐碱地推广种植苜蓿不但能够扩大苜蓿种植面积, 增加优质饲草产量, 还能够有效改良土壤, 增加土壤肥力。但由于相关研究鲜见报道, 目前关于盐胁迫对苜蓿结瘤固氮的影响还所知甚少。本文重点研究了不同浓度NaCl处理对蒺藜苜蓿共生结瘤的影响, 结果发现, 50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理下, 与对照相比, 苜蓿的根瘤数量没有显著变化, 但根瘤明显变小, 说明根瘤生长(来源于根瘤顶端分生组织的细胞分裂分化过程)比根瘤形成(根瘤菌与根互作的根瘤起始过程)对盐胁迫更加敏感。当NaCl浓度 $\geq 100 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 不论是根瘤数量还是根瘤大小均显著减少, 且抑制程度与盐浓度呈正相关; 此外, 研究还发现, 随着盐浓度的升高, 根瘤固氮区细胞数量也急剧减少, 反映了根瘤固氮能力大幅度下降, 这在一定程度上可以解释中高浓度($\geq 100 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)盐处理时共生固氮条件下的苜蓿生长发育受抑制程度更深的的原因。

通过本文的研究,可以得出以下结论:在NaCl浓度 $\geq 100 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 条件下,蒺藜苜蓿与根瘤菌之间的共生固氮系统以及苜蓿的生长发育受到不同程度的抑制,这一结果为耐盐苜蓿育种提供了新的思路,即可以通过对苜蓿和根瘤菌的协同改良达到提高苜蓿耐盐性的目的。为了培育适合盐渍土壤生长的苜蓿品种,前人往往寄希望于选育或改良(如在苜蓿中转入抗盐基因)苜蓿耐盐品种,但经常得不到理想的效果;而如果对苜蓿和根瘤菌进行协同改良,使共生互作的双方都提高耐盐能力,有可能达到更好的效果。Xu等(2012)通过基因工程手段使得苜蓿中华根瘤菌过量表达细胞分裂素,从而大大增强了苜蓿对干旱胁迫的抗性,表明遗传改良根瘤菌对于提高苜蓿抗逆性有着巨大的潜力。由此可见,无论在理论上还是实践中,协同改良苜蓿和根瘤菌,提高共生双方的抗盐能力是增强盐碱地苜蓿产量的一个可行的方案。

参考文献(References)

- Cao H, Zhang HL, Gai QH, et al (2011). Test and comprehensive assessment on the performance of 22 alfalfa varieties. *Acta Pratac Sin*, 20 (6): 219–229 (in Chinese with English abstract) [曹宏, 章会玲, 盖琼辉等(2011). 22个紫花苜蓿品种的引种试验和生产性能综合评价. *草业学报*, 20 (6): 219–229]
- Chen AM, Lian RL, Sun J, et al (2006). Legume model plants—*Medicago truncatula*. *Plant Physiol Commun*, 42 (5): 997–1003 (in Chinese with English abstract) [陈爱民, 连瑞丽, 孙杰等(2006). 豆科模式植物—蒺藜苜蓿. *植物生理学通讯*, 42 (5): 997–1003]
- Chen AP, Wang YX, Zhang B (2011). Effect of NaCl stress on some physiological indexes of 6 alfalfa varieties. *J Xinjiang Agric Univ*, 34 (5): 403–406 (in Chinese with English abstract) [陈爱萍, 王玉祥, 张博(2011). NaCl胁迫对6个苜蓿品种的部分生理指标的影响. *新疆农业大学学报*, 34 (5): 403–406]
- Chinnusamy V, Jagendorf A, Zhu JK (2005). Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Sci*, 45: 437–448
- Downie JA (2005). Legume haemoglobins: symbiotic nitrogen fixation needs bloody nodules. *Curr Biol*, 15: R196–R198
- Ferguson BJ, Indrasumunar A, Hayashi S, et al (2010). Molecular analysis of legume nodule development and autoregulation. *J Integr Plant Biol*, 52: 61–76
- Guo HJ, Hu T, Fu JM (2012). Effects of saline sodic stress on growth and physiological responses of *Lolium perenne*. *Acta Pratac Sin*, 21 (1): 118–125 (in Chinese with English abstract) [郭慧娟, 胡涛, 傅金民(2012). 苏打碱胁迫对多年生黑麦草的生理影响. *草业学报*, 21 (1): 118–125]
- Guo JR, Zheng CC, Li YD, et al (2017). Effects of NaCl treatment on root system characteristics and activity of the euhalophyte *Suaeda salsa*. *Plant Physiol J*, 53 (1): 63–70 (in Chinese with English abstract) [郭建荣, 郑聪聪, 李艳迪等(2017). NaCl处理对真盐生植物盐地碱蓬根系特征及活力的影响. *植物生理学报*, 53 (1): 63–70]
- Jin Y, Liu H, Luo DX, et al (2016). DELLA proteins are common components of symbiotic rhizobial and mycorrhizal signalling pathways. *Nat Commun*, 7: 12433
- Kovda VA (1983). Loss of productive land due to salinization. *Ambio*, 12 (2): 91–93
- Li Y, Chen ZL, Wang J, et al (2011). Effects of salt stress on *Suaeda heteroptera* Kitagawa growth and osmosis-regulating substance concentration. *Chin J Ecol*, 30 (1): 72–76 (in Chinese with English abstract) [李悦, 陈忠林, 王杰等(2011). 盐胁迫对翅碱蓬生长和渗透调节物质浓度的影响. *生态学杂志*, 30 (1): 72–76]
- Li ZW, Ma TY, Liang GT, et al (2014). Photosynthesis in leaves of *Medicago truncatula* under salt stress. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 34 (10): 2070–2077 (in Chinese with English abstract) [李紫薇, 马天意, 梁国婷等(2014). 蒺藜苜蓿叶片光合作用对盐胁迫的响应. *西北植物学报*, 34 (10): 2070–2077]
- Oldroyd GE (2013). Speak, friend, and enter: signalling systems that promote beneficial symbiotic associations in plants. *Nat Rev Microbiol*, 11: 252–263
- Oldroyd GE, Murray JD, Poole PS, et al (2011). The rules of engagement in the legume-rhizobial symbiosis. *Annu Rev Genet*, 45: 119–144
- Wang XS, Han JG (2009). Changes of proline content, activity, and active isoforms of antioxidative enzymes in two Alfalfa cultivars under salt stress. *Agr Sci Chin*, 8 (4): 431–440
- Wei ZW, Gai JY (2008). Model legume: *Medicago truncatula*. *Acta Pratac Sin*, 17 (1): 114–120 (in Chinese with English abstract) [魏臻武, 盖钧镒(2008). 豆科模式植物—蒺藜苜蓿. *草业学报*, 17 (1): 114–120]
- Xu J, Li XL, Luo L (2012). Effects of engineered *Sinorhizobium meliloti* on cytokinin synthesis and tolerance of alfalfa to extreme drought stress. *Appl Environ Microbiol*, 78 (22): 8056–8061
- Yang SH, Ji J, Wang G, et al (2006). Effects of salt stress on plants. *Mol Plant Breeding*, 4: 139–142 (in Chinese with English abstract) [杨少辉, 季静, 王罡等(2006). 盐胁迫对植物影响的研究进展. *分子植物育种*, 4: 139–142]
- Yang Z, Wang BS (2015). Present status of saline soil resources and countermeasures for improvement and utilization in China. *Shandong Agr Sci*, 47 (4): 125–130 (in Chinese with English abstract) [杨真, 王宝山(2015). 中国盐渍土地资源现状及改良利用对策. *山东农业科学*, 47 (4): 125–130]

- Yu CG, Li Y, Xie YF, et al (2016). Effects of NaCl stress on growth and absorption, transportation and distribution of ions in zhongshanshan seedlings. *Plant Physiol J*, 52 (9): 1379–1388 (in Chinese with English abstract) [於朝广, 李颖, 谢寅峰等(2016). NaCl胁迫对中山杉幼苗生长及离子吸收、运输和分配的影响. *植物生理学报*, 52 (9): 1379–1388]
- Yu LL (2014). Functional characterization of two endo-1,4- β -glucanases, PtrCel9A6 and PtrKOR1, in secondary cell wall cellulose formation in *Populus* (dissertation). Shanghai: University of Chinese Academy of Sciences (in Chinese with English abstract) [于亮亮(2014). 杨树1,4- β -葡聚糖内切酶PtrCel9A6和PtrKOR1在次生细胞壁纤维素合成中的功能研究(学位论文). 上海: 中国科学院大学]

Effects of NaCl stress on growth and symbiotic nodulation in *Medicago truncatula*

LI Mei¹, PAN Zhe-Yun², LI Ning-Ning¹, LUO Li¹, YU Liang-Liang^{1*}

¹Shanghai Key Lab of Bio-energy Crops, School of Life Sciences, Shanghai University, Shanghai 200444, China

²The High School Affiliated to Shanghai University, Shanghai 200444, China

Abstract: The effects of different concentrations (0, 50, 100, 150, 200, and 250 mmol·L⁻¹) of NaCl on growth and symbiotic nodulation in *Medicago truncatula* in a pot experiment were studied. The results showed that: in both conditions of symbiotic nitrogen fixation and application of nitrogen fertilizer, no influence of the low concentration (50 mmol·L⁻¹) of NaCl on the growth and development of medicago plants was observed; however, growth of medicago was obviously repressed as the NaCl concentration increased, and the repression effects positively correlated with NaCl concentrations. Further analysis of the effects of NaCl stress on the growth of medicago grown under the above two conditions revealed that growth parameters of medicago treated with nitrogen fertilizer were better than those of medicago inoculated with rhizobia, indicating that symbiotic medicago plants were more sensitive to salinity stress. The effects of NaCl stress on symbiotic nodulation of medicago were also investigated. The results showed that as the NaCl concentration (≥ 100 mmol·L⁻¹) increased, both nodule number and size decreased, and accordingly cells in N-fixing zone of the nodules reduced. Taken together, our results demonstrate that growth and nodulation of medicago are tolerant to low salinity stress, but are repressed by higher concentration of NaCl (≥ 100 mmol·L⁻¹). These results provide useful information for medicago breeding and cultivation in saline lands.

Key words: medicago; NaCl stress; growth; symbiotic nodulation

Received 2018-08-01 Accepted 2018-08-30

This work was supported by the Shanghai Key Program of Supporting (15230500100) and the National Natural Science Foundation of China (31500197).

*Corresponding author (yuliangliang@shu.edu.cn).