

DOI:10.11686/cyxb2025328

<http://cyxb.magtech.com.cn>

黄兆鹏, 何蓉, 南丽丽, 等. 低磷胁迫下外源褪黑素对紫花苜蓿幼苗内源激素及有机酸的影响. 草业学报, 2026, 35(8): 55—64.

HUANG Zhao-peng, HE Rong, NAN Li-li, *et al.* Effects of exogenous melatonin on endogenous hormones and organic acids in alfalfa seedlings under low-phosphorus stress. Acta Prataculturae Sinica, 2026, 35(8): 55—64.

低磷胁迫下外源褪黑素对紫花苜蓿幼苗内源激素及有机酸的影响

黄兆鹏^{**}, 何蓉^{**}, 南丽丽^{*}, 刘佳乐, 杨文科

(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:以耐低磷(7890)和磷敏感(15578)苜蓿为研究材料, 设置常磷($1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, NP)、低磷($0.01\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, LP, 磷源均为 KH_2PO_4)及 LP 胁迫下分别根灌 30、60、90、120、150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 褪黑素(melatonin, MT)共 7 个处理, 探究外源 MT 对 LP 胁迫苜蓿内源激素及有机酸的影响。结果表明:供试苜蓿株高、叶面积、地上及地下生物量、叶片相对含水量、根系玉米素、生长素、赤霉素、草酸、乳酸、柠檬酸、琥珀酸、富马酸、苹果酸含量随 MT 浓度的增加均呈先升后降趋势, 在 90 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 MT 处理下达最大值, 与 LP 胁迫相比, 材料 7890 的增幅分别为 16.55%、34.62%、32.41%、86.78%、15.77%、10.45%、49.56%、15.74%、37.34%、20.05%、61.21%、50.14%、11.50% 和 39.06%; 材料 15578 的增幅分别为 26.75%、32.00%、44.88%、108.91%、27.45%、28.64%、70.21%、107.20%、29.50%、9.17%、55.24%、56.09%、12.00% 和 30.71%; 而脱落酸含量随 MT 浓度的增加呈先降后增趋势, 在 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 MT 处理下达最大值。隶属函数分析表明, 在 90 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 MT 处理下对苜蓿遭受低磷胁迫伤害的缓解效果最佳。耐低磷材料(7890)和磷敏感材料(15578)对褪黑素的响应趋势一致, 但后者改善幅度更大, 表明褪黑素对磷敏感材料的修复效应更为突出。本研究为利用褪黑素提升作物磷效率提供了理论依据和技术途径。

关键词:紫花苜蓿; 褪黑素; 低磷胁迫; 内源激素; 有机酸

Effects of exogenous melatonin on endogenous hormones and organic acids in alfalfa seedlings under low-phosphorus stress

HUANG Zhao-peng^{**}, HE Rong^{**}, NAN Li-li^{*}, LIU Jia-le, YANG Wen-ke

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: This study aimed to investigate the effects of exogenous melatonin (MT) on endogenous hormones and organic acids in alfalfa (*Medicago sativa*) seedlings under low-phosphorus stress. Two alfalfa varieties, one tolerant to low-phosphorus conditions (7890) and one sensitive to phosphorus deficiency (15578), were subjected to seven treatments: normal phosphorus ($1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, NP), low phosphorus ($0.01\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, LP, with KH_2PO_4 as the phosphorus source), and LP combined with root irrigation with MT at concentrations of 30, 60, 90, 120, and 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Fourteen characteristics of alfalfa seedlings were evaluated: plant height, leaf area, aboveground biomass,

收稿日期:2025-08-14;改回日期:2025-11-03

基金项目:甘肃省重大专项(25ZDNA005)和财政部和农业农村部:国家现代农业产业技术体系(CARS-34)资助。

作者简介:黄兆鹏(2002—),男,甘肃白银人,在读硕士。E-mail: 3039738901@qq.com;何蓉(1999—),女,贵州龙里人,在读硕士。E-mail: 1015268173@qq.com. ** 共同第一作者 These authors contributed equally to this work.

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

underground biomass, leaf relative water content, and root zeatin, auxin, gibberellin acid, oxalic acid, lactic acid, citric acid, succinic acid, fumaric acid, and malic acid contents. The values of these 14 characteristics initially increased and then decreased with increasing MT concentration, reaching a maximum in the $90\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MT treatment. For alfalfa variety 7890, compared with the plants under LP stress, those in the $90\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MT treatment showed increases of 16.55%, 34.62%, 32.41%, 86.78%, 15.77%, 10.45%, 49.56%, 15.74%, 37.34%, 20.05%, 61.21%, 50.14%, 11.50%, and 39.06%, respectively, in the above 14 measured characteristics. For alfalfa 15578, these values were increased by 26.75%, 32.00%, 44.88%, 108.91%, 27.45%, 28.64%, 70.21%, 107.20%, 29.50%, 9.17%, 55.24%, 56.09%, 12.00%, and 30.71% respectively, in the $90\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MT treatment compared with the LP treatment. Absciscic acid content exhibited a trend of initially decreasing then increasing with rising MT concentrations, reaching its maximum in the $150\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MT treatment. The membership function analysis indicated that the $90\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MT treatment exerted the strongest effect to alleviate the symptoms of low-phosphorus stress in alfalfa plants. The trends in the responses of variety 7890 (tolerant to low phosphorus) and variety 15578 (sensitive to low phosphorus) to MT were the same, but variety 15578 showed a greater level of improvement with MT treatment under LP stress, indicating that the alleviating effect of MT is greater for materials that are sensitive to low-phosphorus conditions. The results of this study provide a theoretical basis and technical approach for using MT to improve the phosphorus-use efficiency of crops.

Key words: alfalfa; melatonin; low phosphorus stress; endogenous hormone; organic acid

磷作为一种不可再生的矿质营养元素,其参与植物光合作用、呼吸作用、信号传递等生理生化过程,并通过调控酶活性及细胞信号转导,影响植物的生长和代谢^[1]。土壤中总磷含量丰富,但95%以上不能被植物直接吸收利用^[2],严重限制植物磷营养的获取。紫花苜蓿(*Medicago sativa*)作为多年生优质豆科牧草,具有抗旱、抗寒、生物固氮能力,还兼具适口性好、粗蛋白含量及干草产量高等优点,被誉为“牧草之王”^[3],土壤有效磷含量为10~15 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时才能满足其正常生长发育需求^[4]。在石灰性土壤中,磷酸盐离子易与钙、镁等金属离子结合;而在酸性土壤中,则易与铁、铝等金属离子产生螯合固定^[5],这些均导致土壤中有效磷含量短缺,难以满足苜蓿的生长需求。为实现作物高产,农业生产中投入大量磷肥,被植物吸收利用的无机磷肥大约占12.6%,滞留在土壤中的无机磷肥却高达67.2%,其加剧了水体富营养化和土地污染等环境问题,不利于农业发展^[6]。同时,伴随磷矿快速消耗,磷资源可能会在未来50~200年间面临枯竭。为应对未来缺磷对农业生产带来的危机,探究有效缓解苜蓿低磷胁迫的途径显得尤为重要。

研究表明,褪黑素(melatonin, MT)在植物生长发育、生理调节和逆境响应中发挥着多重调控作用。作为信号分子,可以调节植物的种子萌发、根系发育、开花结果等生长发育过程^[7];作为抗氧化剂,通过提高抗氧化酶活性,不仅可有效清除胁迫诱导产生的大量活性氧(reactive oxygen species, ROS),保护植物细胞免受氧化损害,还能通过调控内源激素平衡来影响植物的胁迫响应,从而增强植物抵抗逆境胁迫的能力^[8]。

内源激素是植物自身代谢所产生的一类有机物质,也是调控生长发育和逆境响应的核心信号分子。脱落酸(abscisic acid, ABA)、生长素(auxin, IAA)、玉米素(zeatin, ZT)和赤霉素(gibberellic acid, GA)等植物激素均被研究证明参与逆境胁迫^[9],逆境胁迫下植物激素含量会发生变化以调节细胞代谢进程,而MT通过调控相关基因表达,直接或间接参与生长素载体蛋白和IAA、GA₃、ABA等植物激素的代谢^[10]。研究表明,IAA主要通过生长素响应因子(auxin response factor, ARF)结合磷酸盐转运蛋白1家族(phosphate transporter 1 family, PHT1)启动子的生长素响应元件(auxin response element, AuxRE)直接调控磷转运蛋白促进拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)对磷的吸收利用^[11];GA₃可消除抑制生长发育的DELLA蛋白(della proteins)^[12],调控种子萌发、茎叶生长和光合作用^[13]并延缓叶片衰老^[14];ABA通过调节耐低磷蛋白的表达水平影响磷素利用效率^[15]。王子苑等^[16]研究表明,低磷胁迫对高羊茅(*Festuca arundinacea*)GA₃和IAA含量促进作用明显,而对ABA含量有抑制作用。研究表明,低磷环境下,与磷低效型玉米(*Zea mays*)相比,磷高效基因型玉米的ZT含量降幅更小,IAA、GA₃含量增幅更大,

ABA 含量增幅更小^[17]。

根系分泌物是植物根系向周围环境释放的多种物质,充当植物与外界进行物质交换的重要媒介,其中有机酸、质子和酸性磷酸酶是影响土壤有效磷的主要根系分泌物^[18]。研究发现,低磷胁迫下,不同作物种类甚至是不同品种的同类作物,其分泌的有机酸种类和数量都会有所差异^[19]。低磷胁迫下,棉花(*Gossypium hirsutum*)根系苹果酸、柠檬酸分泌量显著增加,有效促进了 Al-P、Fe-P 和 Ca-P 等难溶性无机磷的活化与利用,显著增强了植物对磷素的吸收能力^[20]。目前,关于 MT 对植物影响的研究主要集中在干旱^[21]、盐碱^[22]、冷害^[23]、镉^[24]等非生物逆境胁迫方面,有关外源 MT 增强苜蓿幼苗抵抗低磷逆境的研究鲜见报道。因此,本研究以耐低磷、磷敏感苜蓿为对象,低磷胁迫处理后喷施不同浓度的外源 MT,测定苜蓿幼苗内源激素及有机酸等生理指标,旨在分析外源 MT 对苜蓿幼苗耐低磷的保护作用,筛选最佳浓度,以期为低磷区苜蓿种植及栽培管理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以前期筛选的耐低磷(材料 zxy2008p-7890)和磷敏感(材料 zxy2010p-15578)苜蓿为试验材料^[25],2 份材料均从俄罗斯瓦维洛夫植物基因库引进。

1.2 试验方法

于 2024 年 9 月在甘肃农业大学植物生长室进行试验,供试苜蓿种子经表面消毒后,播种于经高温灭菌的砂质基质中。幼苗培养在光周期 14 h/10 h(昼/夜)、昼夜温度(25±1)℃/(20±1)℃、光强 400 μmol·m⁻²·s⁻¹、相对湿度 60% 的人工气候室内。每杯保留长势一致、健康无病害的 15 株幼苗,定期定量(每 24 h 70 mL)浇灌 Hoagland 营养液直至幼苗高度达 15 cm 时开始处理。参考 Xia 等^[26]的试验设计,以仅浇灌 Hoagland 营养液的幼苗作为对照(常磷:1.0 mmol·L⁻¹, NP),浇灌含 0.01 mmol·L⁻¹的 Hoagland 营养液作为低磷胁迫处理(LP),用 KCl 平衡调整 K⁺。胁迫 20 d 后,对其进行不同浓度 MT 根灌处理,即 LP+30 μmol·L⁻¹ MT(T₁)、LP+60 μmol·L⁻¹ MT(T₂)、LP+90 μmol·L⁻¹ MT(T₃)、LP+120 μmol·L⁻¹ MT(T₄)、LP+150 μmol·L⁻¹ MT(T₅)。每 2 d 于 18:00 时以根灌外源 MT,每次 70 mL;共根施 6 次,12 d 后测定相关指标;NP 和 LP 处理根灌等量的营养液。

1.3 测定指标及方法

用卷尺随机测量 10 株植株的绝对高度,求均值为株高;采用叶面积仪(LI-3000C,美国 LI-COR 公司)测定叶面积;用蒸馏水将苜蓿植株上的砂土洗净,地上与地下部交界处进行分离,分别称重地上和地下鲜生物量,在烘箱 105℃下杀青 30 min,调至 70℃烘干至恒重后分别称干重;参考邹琦^[27]的方法:叶片相对含水量采用饱和称重法进行测定。即取 2 片完全展开叶片称其鲜重,浸泡在蒸馏水中静置 24 h,取出擦干后称量饱和和鲜重;烘干至恒重,称其干重,叶片相对含水量=(鲜重-干重)/(饱和鲜重-干重)×100%。

参考汪堃等^[28]的方法进行植物激素含量测定:即取苜蓿根系,于液氮中快速研磨成细粉,分装至离心管,加入预冷的色谱级甲醇于 4℃下浸提 24 h。冷冻离心机 8000 r·min⁻¹离心 15 min 并吸取上清液,在旋转蒸发仪下浓缩去除甲醇。浓缩至 2 mL 左右时取出浓缩液并过 0.22 μm 有机膜,于四元梯度超快速液相色谱仪 Waters Arc-2998PDA Waters(沃世特公司,美国)进样测定内源激素(ZT、IAA、ABA、GA₃)含量。

取新鲜苜蓿根系,用去离子水充分冲洗,滤纸吸干表面水分,准确称取 10 g 根,磨成匀浆,转移到离心管中。加入 25 mL 超纯水超声提取 1 h,使有机酸充分浸出。冷冻离心机 8000 r·min⁻¹离心 15 min 并吸取上清液,将残留物加入 10 mL 超纯水中重新提取。上清液混合后过 0.22 μm 水系膜,将样品注入色谱柱(Thermo Fisher, Hypesil Gold, C18)中,测定有机酸(草酸、苹果酸、乳酸、柠檬酸、琥珀酸、富马酸)含量^[29];每个指标重复 3 次。

1.4 数据统计分析

利用 Excel 2021 进行数据整理,Origin 2021 软件绘图,SPSS 25.0 进行方差分析,Duncan's 进行多重比较。

通过隶属函数法综合评价后得出最适 MT 浓度。与 LP 胁迫呈正相关的指标,计算公式为 $F_{ij} = (X_{ij} - X_{jmin}) / (X_{jmax} - X_{jmin})$;与 LP 胁迫呈负相关的指标,计算公式为 $F_{ij} = 1 - (X_{ij} - X_{jmin}) / (X_{jmax} - X_{jmin})$ 。式中: F_{ij} 为 i 材料的 j 性状的隶属函数值; X_{ij} 为 i 材料 j 性状测定值; X_{jmin} 为 j 性状中最小值; X_{jmax} 为 j 性状中最大值。

采用客观赋权法计算各指标权重 (W_j), 计算公式为: $W_j = I_j / \sum_{j=1}^n I_j$ 。与 LP 胁迫呈正相关的指标为 $I_j = C_j / S_j$, 与 LP 胁迫呈负相关的指标为 $I_j = S_j / C_j$ 。式中: I_j 为测定值与对照组的比值, C_j 为对照组第 j 个指标的测定值, S_j 为处理组第 j 个测定指标的平均值。耐低磷性综合评价值为 $D = \sum_{j=1}^n (F_{ij} \times W_j)$ 。

2 结果与分析

2.1 苜蓿材料生长差异分析

与 NP 相比, LP 下供试苜蓿株高、叶面积、地上及地下生物量、叶片相对含水量均显著降低 ($P < 0.05$, 图 1), 其中耐低磷材料 7890 分别下降了 19.67%、33.33%、31.99%、53.10%、9.91%; 磷敏感材料 15578 分别下降了 25.69%、34.21%、38.25%、53.24%、68.59%。随外源 MT 浓度的增加, 2 份供试苜蓿的株高、叶面积、地上及地下生物量、叶片相对含水量均先升后降, 且以 T_3 处理效果最佳, T_3 处理下, 材料 7890 较 LP 分别显著上升了 16.55%、34.62%、32.41%、86.78%、9.80% ($P < 0.05$), 材料 15578 较 LP 分别显著增加了 26.75%、32.00%、44.88%、108.91%、20.24% ($P < 0.05$)。

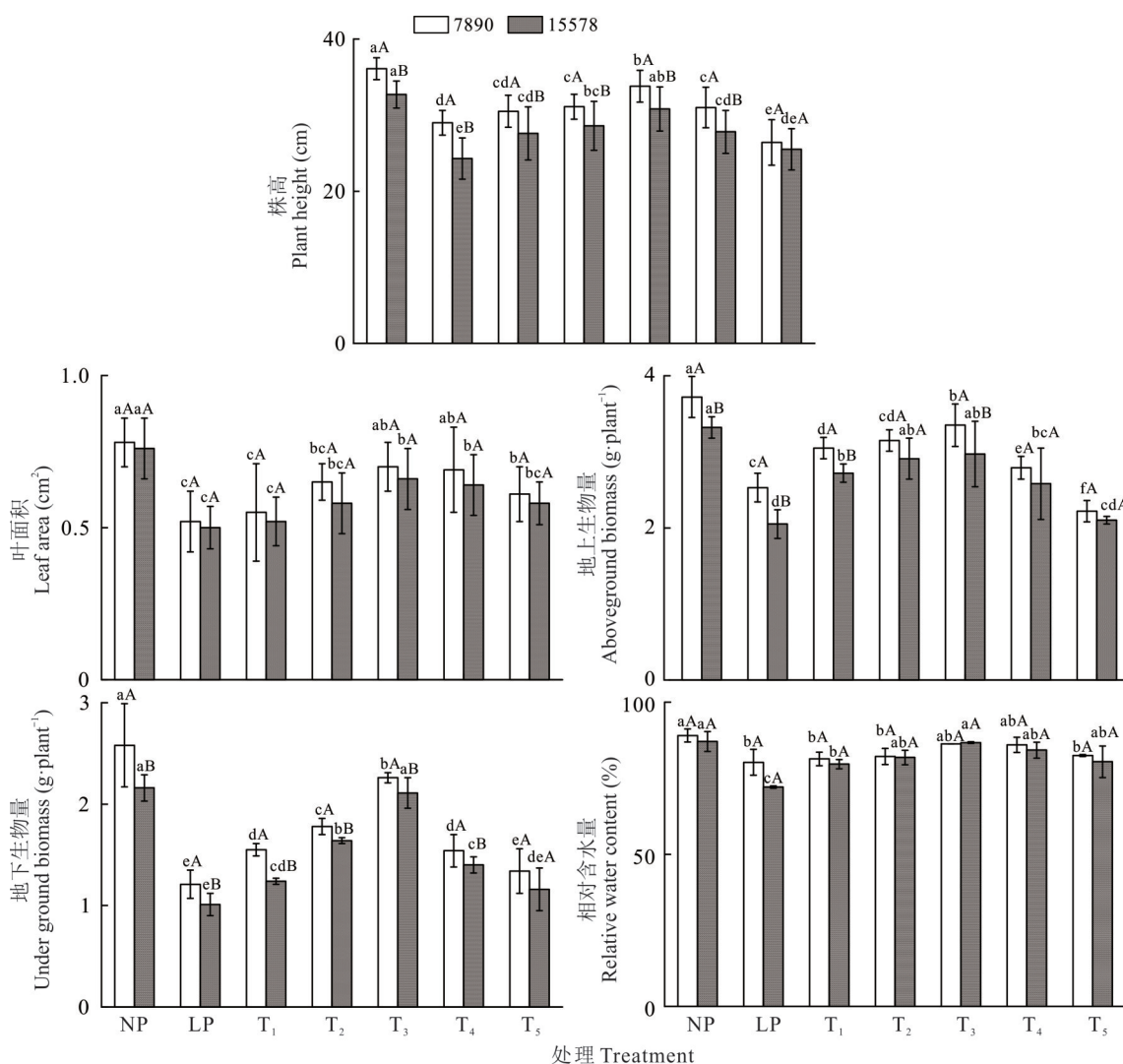


图 1 外源褪黑素对低磷胁迫下苜蓿生长的影响

Fig. 1 Effects of exogenous melatonin on alfalfa growth under low phosphorus stress

不同小写字母表示相同苜蓿材料不同处理下差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示相同处理下不同苜蓿材料差异显著 ($P < 0.05$)。下同。 Different lowercase letters indicate significant differences for the same alfalfa materials among different treatments ($P < 0.05$), while different uppercase letters indicate significant differences between different alfalfa materials under the same treatment ($P < 0.05$). The same below.

2.2 苜蓿材料内源激素对比分析

与 NP 相比, LP 胁迫导致 2 份苜蓿材料根系 ZT、GA₃ 及 IAA 的含量均显著下降 ($P < 0.05$, 图 2)。随着外源 MT 浓度增加, 材料 7890 和 15578 根系 ZT、GA₃ 及 IAA 含量均先上升后下降, 在 T₃ 浓度达到最大值, 相较于 LP, 分别上升了 10.45%、15.74%、49.56% 和 28.64%、107.20%、70.21%, 但均低于 NP ($P < 0.05$)。根系 ABA 含量在 LP 胁迫下均较 NP 显著上升 ($P < 0.05$), 随着外源 MT 浓度增加, ABA 含量均先下降后上升, 且在 T₃ 浓度降到最低 ($P < 0.05$), 相较于 LP, 材料 7890 和 15578 含量分别显著下降 13.95%、24.80%。施加低浓度 (30、60 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) MT 时, 2 份材料的 ZT、IAA 含量与 LP 无显著差异。总体上, 耐低磷材料 7890 根系的 ZT、GA₃ 及 IAA 含量显著高于磷敏感材料 15578 ($P < 0.05$)。

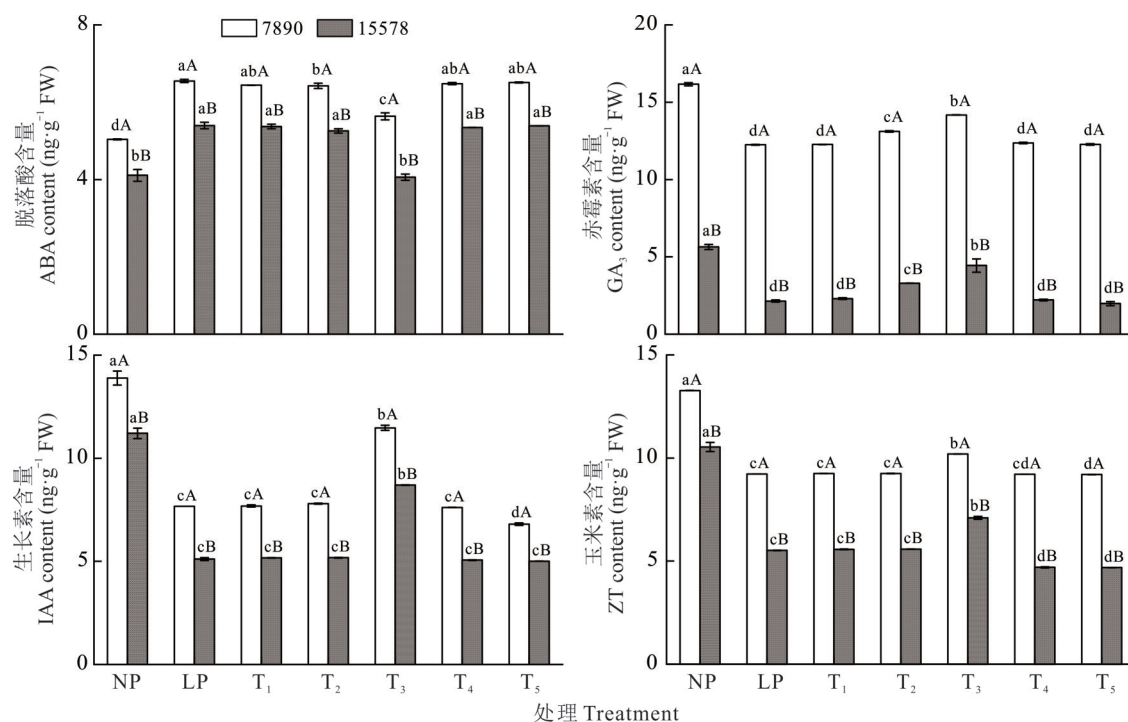


图 2 外源褪黑素对低磷胁迫下苜蓿根系内源激素含量的影响

Fig. 2 Effects of exogenous melatonin on root endogenous hormone contents of alfalfa under low phosphorus stress

2.3 苜蓿材料有机酸对比研究

与 NP 相比, LP 胁迫下供试苜蓿根系琥珀酸、富马酸、柠檬酸、草酸及苹果酸含量均显著增加 ($P < 0.05$, 图 3)。施加外源 MT 后, 随着 MT 浓度增加, 琥珀酸、富马酸、柠檬酸、草酸、苹果酸及乳酸含量均先上升后下降, 在 T₃ 达到最大值, 材料 7890 和 15578 的琥珀酸、富马酸、柠檬酸、草酸、苹果酸及乳酸含量较 LP 处理分别显著上升了 50.14%、11.54%、61.21%、37.34%、39.06%、20.05% 和 56.09%、12.00%、55.24%、29.50%、30.71%、9.17% ($P < 0.05$)。

2.4 隶属函数综合评价

基于隶属函数综合评价结果 (表 1) 显示, 不同外源 MT 处理对提高苜蓿耐低磷性的效果依次为 T₃ > T₂ > T₄ > T₁ > LP > T₅, T₃ 处理 (90 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ MT) 下 D 值最高, 表明该浓度对缓解苜蓿低磷胁迫损伤的效果最佳。

3 讨论

3.1 外源 MT 对低磷胁迫下苜蓿生长的影响

植物苗期对磷元素的缺失尤为敏感, 低磷胁迫显著抑制植物的生长发育, 表现为植株发育延缓、矮化、叶片呈现暗绿色或紫红色等^[14]。有研究发现, 盐胁迫下施加 MT 可促进大豆 (*Glycine max*) 生长, 株高、叶面积等指标随

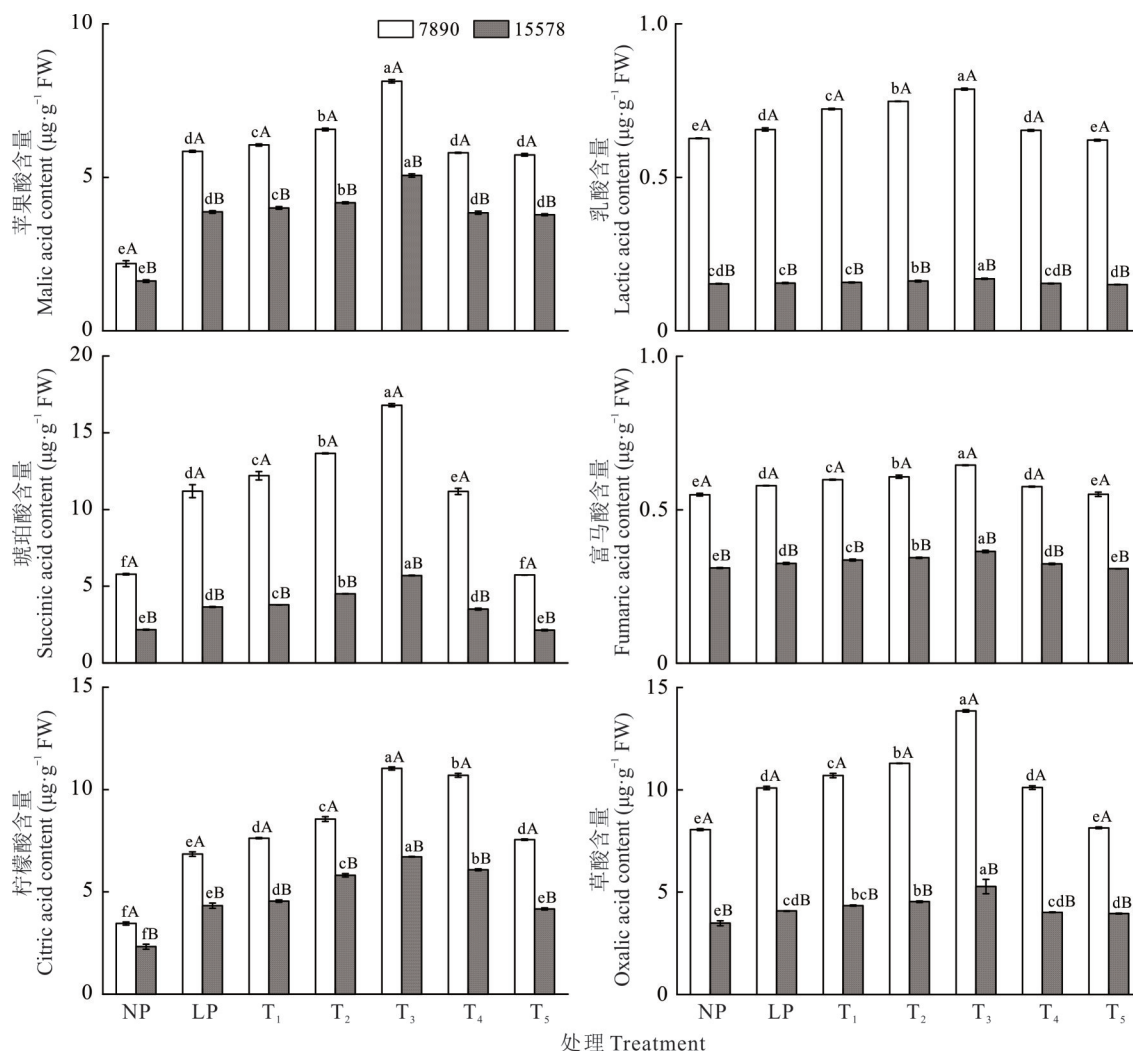


图3 外源褪黑素对低磷胁迫下苜蓿根系有机酸含量的影响

Fig. 3 Effects of exogenous melatonin on root organic acid contents of alfalfa under low phosphorus stress

MT 浓度增大呈先升后降的趋势^[30];低磷胁迫下,外源添加 MT 使大麦(*Hordeum vulgare*)根系生长受抑制程度减缓^[31]。本研究发现,LP 胁迫降低了 2 份苜蓿材料的株高、地上、地下生物量及叶面积;但施加 MT 后,LP 胁迫对苜蓿幼苗生长的抑制作用有所缓解,且 T₃ 处理的缓解效果最为明显,其各形态指标及相对含水量达最大值,但 T₁ 和 T₂ 处理下增幅较小,表明 90 μmol·L⁻¹ MT 浓度能有效改善其形态特征,提升叶片保水能力。这是因为 MT 作为植物生长调节剂,能够促进植株营养器官的发育,协调地上部与地下部之间养分与同化物的分配,有效促进渗透调节物质的积累,使植物的株高、叶面积、生物量及相对含水量增加^[32]。

3.2 外源 MT 对低磷胁迫苜蓿内源激素的影响

苜蓿对逆境胁迫的适应性与其内源激素网络的精密调控密切相关^[11]。研究发现,外源 MT 处理显著降低了黑麦草(*Lolium perenne*)中 IAA 的水平^[33]。Li 等^[34]研究表明添加 MT 抑制了 ABA 合成相关基因环氧类胡萝卜素裂解酶 1(*NCED1*)的上调,减轻胁迫带来的抑制等作用。本研究中,外源 MT 对苜蓿内源激素的调控呈现出典型的浓度依赖效应。与 LP 相比,适宜浓度(T₃)的 MT 处理显著提升了根系中 ZT、IAA 和 GA₃ 的含量,并显著降低了 ABA 含量,这种激素水平的变化与 Shi 等^[35]在拟南芥等植物中的研究结果相吻合,进一步证实了适宜浓度 MT 通过优化激素平衡以增强植物抗逆性的普遍规律。说明适宜浓度 MT 通过提高 IAA 和 GA₃ 含量,激活生长相关生理代谢途径,最终增强苜蓿对 LP 胁迫的耐受能力^[36]。然而,当 MT 浓度高于 90 μmol·L⁻¹ 时缓解效果减弱, ZT、IAA、GA₃ 和 ABA 的含量显著低于 T₃ ($P < 0.05$),表明过量 MT 可能干扰了内源激素的稳态平衡,抑制了其

表 1 外源褪黑素对低磷胁迫下苜蓿各指标隶属函数值及其综合评价的影响

Table 1 Membership function value and comprehensive evaluation of exogenous melatonin on each index of alfalfa under low phosphorus stress

指标 Index	LP		T ₁		T ₂		T ₃		T ₄		T ₅	
	F _{ij}	W _j	F _{ij}	W _j	F _{ij}	W _j	F _{ij}	W _j	F _{ij}	W _j	F _{ij}	W _j
X ₁	0.199	0.040	0.405	0.043	0.473	0.048	0.677	0.054	0.434	0.047	0.142	0.043
X ₂	0.041	0.046	0.125	0.052	0.427	0.052	0.639	0.058	0.591	0.046	0.341	0.042
X ₃	0.142	0.048	0.502	0.044	0.587	0.049	0.664	0.057	0.379	0.052	0.063	0.052
X ₄	0.061	0.066	0.240	0.062	0.443	0.058	0.745	0.055	0.292	0.064	0.150	0.061
X ₅	0.240	0.036	0.495	0.040	0.583	0.045	0.850	0.052	0.767	0.041	0.551	0.035
X ₆	0.313	0.033	0.317	0.037	0.318	0.041	0.461	0.041	0.264	0.043	0.263	0.037
X ₇	0.368	0.184	0.374	0.175	0.439	0.141	0.517	0.130	0.374	0.157	0.363	0.154
X ₈	0.769	0.075	0.742	0.073	0.715	0.075	0.317	0.103	0.744	0.062	0.759	0.055
X ₉	0.156	0.193	0.160	0.187	0.167	0.189	0.571	0.134	0.150	0.163	0.101	0.154
X ₁₀	0.347	0.080	0.389	0.073	0.427	0.071	0.587	0.067	0.345	0.067	0.248	0.067
X ₁₁	0.400	0.095	0.455	0.087	0.478	0.085	0.515	0.091	0.397	0.079	0.370	0.073
X ₁₂	0.375	0.051	0.432	0.045	0.558	0.038	0.752	0.035	0.696	0.028	0.406	0.037
X ₁₃	0.360	0.054	0.400	0.049	0.474	0.043	0.621	0.039	0.355	0.046	0.123	0.073
X ₁₄	0.224	0.069	0.247	0.118	0.260	0.164	0.305	0.220	0.220	0.216	0.188	0.223
X ₁₅	0.497	0.038	0.523	0.036	0.575	0.035	0.764	0.032	0.492	0.032	0.481	0.029
D 值 D value	0.334		0.397		0.461		0.620		0.411		0.298	
排序 Order	5		4		2		1		3		6	

X₁: 株高 Plant height; X₂: 叶面积 Leaf area; X₃: 地上生物量 Aboveground biomass; X₄: 地下生物量 Underground biomass; X₅: 叶片相对含水量 Leaf relative water content; X₆: 玉米素 Zeatin; X₇: 赤霉素 Gibberellic acid; X₈: 脱落酸 Absciscic acid; X₉: 生长素 Auxin; X₁₀: 草酸 Oxalic acid; X₁₁: 乳酸 Lactic acid; X₁₂: 柠檬酸 Citric acid; X₁₃: 琥珀酸 Succinic acid; X₁₄: 富马酸 Fumaric acid; X₁₅: 苹果酸 Malic acid; F_{ij}: 隶属值 Membership function value; W_j: 权重 Weight.

合成或信号转导,从而抵消甚至逆转其缓解胁迫的积极作用,导致生长受到抑制^[37]。

3.3 外源 MT 对低磷胁迫苜蓿有机酸含量的影响

低磷胁迫诱导有机酸积累与分泌是植物提高磷素利用效率的重要适应机制之一^[38]。崔会婷等^[39]研究发现,对狗牙根(*Cynodon dactylon*)施加 MT 可通过激活抗氧化系统并调控代谢稳态,显著增强其对盐、干旱和冷胁迫的抗性,同时诱导有机酸、氨基酸等胁迫响应代谢物积累。本研究中,LP 胁迫显著诱导苜蓿根系有机酸(草酸、苹果酸、琥珀酸、柠檬酸等)的积累,且外源 MT 进一步提升了 7890 和 15578 两种苜蓿材料根中分泌的柠檬酸、草酸、苹果酸、乳酸含量,表明 MT 通过增强苜蓿根系有机酸的分泌能力,促进土壤中难溶性磷的活化^[22],进而提高苜蓿对低磷环境的耐受性^[40]。此外,本研究中,随着 MT 浓度增加,琥珀酸、富马酸、柠檬酸、草酸、苹果酸及乳酸含量呈先升后降趋势,且材料间增幅存在显著差异。这与任立飞等^[41]在耐低磷黄花苜蓿(*Medicago falcata*)中的发现一致,可能是由于材料间本身的遗传差异或相关基因的表达水平引起。

4 结论

本研究探明根灌 90 μmol·L⁻¹外源褪黑素是缓解紫花苜蓿幼苗低磷胁迫的最佳浓度,且 2 份材料在响应方式上存在明显差异。其中磷敏感材料 15578 以生长恢复为主,其株高、叶面积、生物量和相对含水量显著增加;耐低磷材料 7890 则通过维持更高的根系内源激素(ZT、IAA、GA₃)及有机酸(草酸、苹果酸、柠檬酸、琥珀酸)水平来保持生理活性。综上所述,2 份材料采用不同资源分配策略,增强苜蓿幼苗对低磷胁迫的耐受性。

参考文献 References:

- [1] Madison I, Gillan L, Peace J, *et al.* Phosphate starvation: Response mechanisms and solutions. *Journal of Experimental Botany*, 2023, 74(21): 6417–6430.
- [2] Meng X X, Li W F, Shen R F, *et al.* Time-course response of phenotype and the expression of Pi-starvation responsive genes in high and low Pi-efficient wheat genotypes to Pi starvation. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2021, 27(11): 1883–1893.
孟翔翔, 李文凤, 沈仁芳, 等. 不同磷效率基因型小麦应对缺磷胁迫的表型及相关基因表达的研究. *植物营养与肥料学报*, 2021, 27(11): 1883–1893.
- [3] Ma Q G, Li T, Wei R R, *et al.* Characterization of chalcones from *Medicago sativa* L. and their hypolipidemic and antiangiogenic activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(43): 8138–8145.
- [4] He H H, Peng Q, Wang X, *et al.* Growth, morphological and physiological responses of alfalfa (*Medicago sativa*) to phosphorus supply in two alkaline soils. *Plant and Soil*, 2017, 416(1): 565–584.
- [5] Cao X Y, Ai W Y, Wen S Y, *et al.* Mechanism, influencing factors and practical application of organic acids in improving soil phytate bioavailability. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2023, 29(11): 2150–2171.
曹兴圆, 艾雯妍, 文思颖, 等. 有机酸提高土壤植酸生物有效性的机制、影响因素及应用. *植物营养与肥料学报*, 2023, 29(11): 2150–2171.
- [6] Luo X Z, Elrys A S, Zhang L L, *et al.* The global fate of inorganic phosphorus fertilizers added to terrestrial ecosystems. *One Earth*, 2024, 7(8): 1402–1413.
- [7] Wang W W, Shen F, Wu Y C, *et al.* A review of melatonin biosynthesis and its role in plant stress responses. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2022, 50(1): 1–6.
王薇薇, 沈峰, 吴永成, 等. 褪黑素生物合成及其在植物逆境胁迫中的作用综述. *江苏农业科学*, 2022, 50(1): 1–6.
- [8] Manchester L C, Coto-Montes A, Boga J A, *et al.* Melatonin: An ancient molecule that makes oxygen metabolically tolerable. *Journal of Pineal Research*, 2015, 59(4): 403–419.
- [9] Shi T Q, Peng H, Zeng S Y, *et al.* Microbial production of plant hormones: Opportunities and challenges. *Bioengineered*, 2017, 8(2): 124–128.
- [10] Waadt R, Sella C A, Hsu P K, *et al.* Plant hormone regulation of abiotic stress responses. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2022, 23(10): 680–694.
- [11] Liu L, Yahaya B S, Li J, *et al.* Enigmatic role of auxin response factors in plant growth and stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 2024, 15: 1398818.
- [12] Lantaouni O, Alkofer A, Falter-braun P, *et al.* Growth-regulating factors interact with *DELLAs* and regulate growth in cold stress. *The Plant Cell*, 2020, 32(4): 1018–1034.
- [13] Hu T T, Wang L L, Zhang L, *et al.* Effects of exogenous gibberellin on growth, physiology and photosynthetic characteristics of garden chrysanthemum under saline-alkali stress. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2024, 52(18): 169–176.
虎海淘, 王玲玲, 张黎, 等. 外源赤霉素对盐碱胁迫下园林小菊生长、生理及光合特性的影响. *江苏农业科学*, 2024, 52(18): 169–176.
- [14] Zhang Z, Nie Y T, Cui K L, *et al.* Research progress on the function of melatonin in regulating growth, development and stress resistance in herbaceous specie. *Acta Agrestia Sinica*, 2023, 31(9): 2571–2581.
张昭, 聂宇婷, 崔凯伦, 等. 褪黑素调控草类植物生长发育及抗逆性功能研究进展. *草地学报*, 2023, 31(9): 2571–2581.
- [15] Xu Y M, Peng S Y, Sun Z W, *et al.* Differences in endogenous hormone levels and their relationship with yield and phosphorus use efficiency in rice varieties with various tolerance to low phosphorus stress. *Chinese Journal of Rice Science*, 2025, 39(2): 231–244.
徐月梅, 彭诗燕, 孙志伟, 等. 不同耐低磷水稻品种的内源激素水平差异及其与产量和磷利用率的关系. *中国水稻科学*, 2025, 39(2): 231–244.
- [16] Wang Z Y, Shu J H, Wu J H, *et al.* Physiological response and genomic DNA methylation polymorphism analysis of tall fescue under phosphorus deficiency stress. *Chinese Journal of Grassland*, 2020, 42(3): 7–14.
王子苑, 舒健虹, 吴佳海, 等. 低磷胁迫下高羊茅生理响应及基因组DNA甲基化多态性分析. *中国草地学报*, 2020, 42(3): 7–14.
- [17] Guo H L, Tian M Z, Ri X, *et al.* Phosphorus acquisition, translocation, and redistribution in maize. *Journal of Genetics and Genomics*, 2025, 52(3): 287–296.
- [18] Du S Y, Fang Y T, Lu J W. Research progress on the effect of root exudate on crop nutrient uptake and utilization. *Journal of*

- Huazhong Agricultural University, 2023, 42(2): 147—157.
- 杜思垚, 方娅婷, 鲁剑巍. 根系分泌物对作物养分吸收利用的影响研究进展. 华中农业大学学报, 2023, 42(2): 147—157.
- [19] Sun Z W, Xu Y M, Xu R Y, *et al.* Research progress on the response of low phosphorus stress and its regulatory mechanism in rice. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2023, 37(8): 1562—1570.
- 孙志伟, 徐月梅, 许荣越, 等. 水稻低磷胁迫响应及其调控机制的研究进展. 核农学报, 2023, 37(8): 1562—1570.
- [20] Wang Z A, Li Q, Ge X Y, *et al.* The mitochondrial malate dehydrogenase 1 gene *GhmMDH1* is involved in plant and root growth under phosphorus deficiency conditions in cotton. *Scientific Reports*, 2015, 5(1): 10343.
- [21] Zhang R, Liu L R, Fu K X, *et al.* Regulatory of exogenous melatonin on floret development and carbon nutrient metabolism in winter wheat under drought stress. *Scientia Agricultura Sinica*, 2024, 57(23): 4644—4657.
- 张荣, 刘淋茹, 付凯霞, 等. 干旱胁迫下外源褪黑素对冬小麦小花发育及碳营养代谢的调控. 中国农业科学, 2024, 57(23): 4644—4657.
- [22] Zhao C Y, Liu Y T, Jia X P, *et al.* Research progress in the effect of melatonin on crop physiological mechanism under saline-alkali stress. *Biotechnology Bulletin*, 2025, 41(2): 18—29.
- 赵长延, 柳延涛, 贾秀苹, 等. 盐碱胁迫下褪黑素对作物生理机制影响的研究进展. 生物技术通报, 2025, 41(2): 18—29.
- [23] Pan X P, Li J H, Zhang Y P, *et al.* Effects of seed soaking with exogenous substances on the growth, development, yield and quality of cotton exposed to cold damage at the seeding stage. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2024, 42(5): 147—156.
- 潘喜鹏, 李军宏, 张要朋, 等. 外源物浸种对苗期遭遇冷害棉花生长发育、产量及品质的影响. 干旱地区农业研究, 2024, 42(5): 147—156.
- [24] Li C Q, Wen G C, Zheng B S, *et al.* Progress on melatonin alleviating of cadmium stress in plants. *Plant Physiology Journal*, 2023, 59(9): 1749—1759.
- 李承青, 温广超, 郑炳松, 等. 褪黑素缓解植物镉胁迫机制研究进展. 植物生理学报, 2023, 59(9): 1749—1759.
- [25] He R, Nan L L, Guo J Y, *et al.* Effects of exogenous melatonin on the growth and physiological characteristics of alfalfa under low phosphorus stress. *Acta Agrestia Sinica*, 2026, 34(2): 632—642.
- 何蓉, 南丽丽, 郭佳雨, 等. 外源褪黑素对低磷胁迫下紫花苜蓿生长及生理特性的影响. 草地学报, 2026, 34(2): 632—642.
- [26] Xia J, Nan L L, Wang K, *et al.* Comprehensive dissection of metabolites in response to low phosphorus stress in different root-type alfalfa at seedling stage. *Agronomy*, 2024, 14(8): 1697.
- [27] Zou Q. Experimental guidance of plant physiology. Beijing: China Agriculture Press, 2003: 110—174.
- 邹琦. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业出版社, 2003: 110—174.
- [28] Wang K, Nan L L, Guo Q E, *et al.* Effects of drought stress on endogenous hormone contents of different root-type alfalfa. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2022, 40(3): 30—36.
- 汪堃, 南丽丽, 郭全恩, 等. 干旱胁迫对不同根型苜蓿内源激素含量的影响. 干旱地区农业研究, 2022, 40(3): 30—36.
- [29] Du Y, Zhang Y L, Zhang Z H, *et al.* Soil improvement effect of planting seven gramineous plants in saline-alkali soil in the northern Xinjiang. *Pratacultural Science*, 2023, 40(5): 1210—1219.
- 杜艺, 张玉林, 张志浩, 等. 种植 7 种牧草对北疆盐碱地土壤改良效果的评价. 草业科学, 2023, 40(5): 1210—1219.
- [30] Guo Y H, Wang H B, Bai B W, *et al.* Effects of exogenous melatonin on salt stress reduction in soybean seedlings. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2024, 39(2): 116—125.
- 郭远航, 王洪博, 白宝伟, 等. 外源褪黑素对大豆幼苗盐胁迫的缓解效应. 华北农学报, 2024, 39(2): 116—125.
- [31] Ma J W, Ma Z K, Yao L R, *et al.* Regulating effect of exogenous melatonin on root growth of barley seedling under phosphorus stress. *Journal of Triticeae Crops*, 2023, 43(8): 1020—1028.
- 马静玮, 马增科, 姚立蓉, 等. 低磷胁迫下外源褪黑素对大麦幼苗根系发育的调控作用. 麦类作物学报, 2023, 43(8): 1020—1028.
- [32] Zhang Y Y, Li Y C, Liu H, *et al.* Effect of exogenous melatonin on corn seed germination and seedling salt damage mitigation under NaCl stress. *Plants*, 2025, 14(7): 1139.
- [33] Liu Y X, Mao R, Yang M H, *et al.* Effects of exogenous hormones on physiological characteristics and drought resistance of *Lolium perenne* under drought stress. *Pratacultural Science*, 2024, 41(2): 425—436.
- 刘亚西, 毛芮, 杨梦含, 等. 外源激素对干旱胁迫下黑麦草生理特性的影响及抗旱性评价. 草业科学, 2024, 41(2): 425—436.
- [34] Li Z, Su X Y, Chen Y L, *et al.* Melatonin improves drought resistance in maize seedlings by enhancing the antioxidant system

- and regulating abscisic acid metabolism to maintain stomatal opening under PEG-induced drought. *Journal of Plant Biology*, 2021, 64(4): 299–312.
- [35] Shi H T, Chen Y H, Tan D X, *et al.* Melatonin induces nitric oxide and the potential mechanisms relate to innate immunity against bacterial pathogen infection in *Arabidopsis*. *Journal of Pineal Research*, 2015, 59(1): 102–108.
- [36] Duan B W, Jiao S B, Bao H Z, *et al.* Effects of exogenous melatonin on alfalfa (*Medicago sativa*) under high-nitrate stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2025, 25: 6428–6446.
- [37] Qin B, Zhang M C, He S Y, *et al.* Alleviating effect of melatonin soaking on drought stress during soybean seed germination. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2020, 38(2): 192–198.
- 秦彬, 张明聪, 何松榆, 等. 褪黑素浸种对大豆种子萌发过程中干旱胁迫的缓解效应. *干旱地区农业研究*, 2020, 38(2): 192–198.
- [38] Tian J, Liang C Y, Lu X, *et al.* Mechanism of root exudates regulating plant responses to phosphorus deficiency. *Journal of South China Agricultural University*, 2019, 40(5): 175–185.
- 田江, 梁翠月, 陆星, 等. 根系分泌物调控植物适应低磷胁迫的机制. *华南农业大学学报*, 2019, 40(5): 175–185.
- [39] Cui H T, Sun X N, Ma C Z, *et al.* Advances in applications of metabolomics technology in stress resistance of forage and turfgrass. *Acta Agrestia Sinica*, 2020, 28(4): 873–880.
- 崔会婷, 孙熙喏, 马承泽, 等. 代谢组学在牧草与草坪草抗逆性中的研究进展. *草地学报*, 2020, 28(4): 873–880.
- [40] Wu L J, Kobayashi Y, Wasaki J, *et al.* Organic acid excretion from roots: A plant mechanism for enhancing phosphorus acquisition, enhancing aluminum tolerance, and recruiting beneficial rhizobacteria. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2018, 64(6): 697–704.
- [41] Ren L F, Zhang W H, Li Y S. Effect of phosphorus deficiency on physiological properties of *Medicago falcata*. *Acta Prataculturae Sinica*, 2012, 21(3): 242–249.
- 任立飞, 张文浩, 李衍素. 低磷胁迫对黄花苜蓿生理特性的影响. *草业学报*, 2012, 21(3): 242–249.