

干旱胁迫对苜蓿幼苗叶绿素荧光特性和膜脂过氧化的影响

张翠梅, 师尚礼, 陈建纲

(甘肃农业大学 草业学院/草业生态系统教育部重点实验室/甘肃省草业工程实验室/中美草地畜牧业可持续研究中心, 甘肃 兰州 730070)

摘要:为明确干旱胁迫对紫花苜蓿不同抗旱品种幼苗叶片的光合生理及膜脂过氧化的影响,以陇中苜蓿(强抗旱),陇东苜蓿(中抗旱)和甘农3号紫花苜蓿(弱抗旱)为试验材料,采用营养液砂培方法,以 -1.2 MPa PEG-6000 溶液模拟干旱胁迫,比较不同胁迫时间(0、3、6、9 和 12 d)处理下紫花苜蓿叶片相对含水量(RWC)、叶绿素(Chl)含量、活性氧($\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 和 $\text{OH}^{\cdot}$)和丙二醛(MDA)含量及叶绿素荧光参数的变化。结果表明:随干旱胁迫时间延长,供试苜蓿品种的 RWC、Chl a 含量、Chl a/b 比值、最大荧光(F_m)、潜在光化学效率(F_v/F_o)、最大光化学效率(F_v/F_m)、光化学淬灭系数(qP)、PS II 光化学量子产量(Yield)和表观光合电子传递速率(ETR)不断下降;而其 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 、 $\text{OH}^{\cdot}$ 和 MDA 含量不断增加。陇中苜蓿叶片 RWC、Chl a 含量、 F_m 、 F_v/F_o 、 F_v/F_m 、Yield 和 ETR 的降幅及 H_2O_2 和 MDA 含量的增幅均低于陇东苜蓿和甘农3号。相关性分析表明,供试苜蓿 RWC、Chl a、Chl a/b、 F_m 、 F_v/F_m 、 qP 、ETR、Yield 与 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 、 $\text{OH}^{\cdot}$ 、MDA 均呈极显著负相关。主成分分析表明,对陇中苜蓿抗旱性影响最大的主要为叶绿素荧光特性因子(qN 、Yield、Chl a、 qP 和 ETR),而对陇东苜蓿和甘农3号抗旱性影响最大的主要为膜脂过氧化因子($\text{OH}^{\cdot}$ 、 H_2O_2 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 MDA)。相比陇东苜蓿和甘农3号,陇中苜蓿的叶绿素荧光参数受干旱影响小,其抗旱的重要生理原因是具有较强的叶片保水能力,较低的光合机构损伤及膜脂过氧化程度。

关键词:苜蓿;干旱胁迫;叶绿素荧光参数;膜脂过氧化;活性氧

中图分类号:S 54;Q 945.78 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2019)01-0016-12

干旱是影响作物生长发育、分布和产量的主要非生物胁迫因素之一。据统计,世界上约有 1/3 的地区属于干旱和半干旱区,我国干旱半干旱地区约占国土面积的 1/2^[1-2]。在我国黄土高原区普遍降水量少、蒸发量大,尤其黄土高原陇中地区旱灾十分频繁,对紫花苜蓿的种植面积和产量构成了严重威胁^[3-4]。

干旱胁迫导致作物及牧草减产主要是通过影响其叶片的光合功能,抑制光合作用,进而导致减产^[5]。大

量研究发现,受到干旱胁迫后,多数植物的光合速率会下降^[6-14]。现有的研究表明,在植物遭受轻度和中度干旱胁迫时,光合作用下降的主要原因是气孔限制,即气孔导度下降,导致胞间 CO_2 浓度下降,进而降低光合速率;而在持续干旱或重度干旱胁迫时,因干旱致使叶绿素结构发生变化,植物膜系统受损伤,膜脂过氧化加剧而产生超氧自由基,光合色素严重降解,光合电子系统遭破坏,光系统 II (PS II) 活性下降, RuBP 羧化酶活性受到抑制,从而导致光合作用受损,即所谓的光合作用的非气孔限制^[15-16]。叶绿素荧光动力学技术是研究光合作用机制和探测光合生理状况的一种新兴技术,在测定叶片光合作用过程中光系统对光能的吸收、传递、耗散、分配等方面具有独特的作用。与反映“表观性”的气体交换指标相比,叶绿素荧光参数具有反映“内在性”的特点,是研究植物光合生理与逆境胁迫的

收稿日期:2018-08-27; 修回日期:2018-10-17

基金项目:国家现代牧草产业技术体系(CARS-35)资助

作者简介:张翠梅(1994-),女,甘肃华池人,在读博士。

E-mail:Zhangcm1710@163.com

师尚礼为通讯作者。

E-mail:Shishl@gsau.edu.cn

内在探针^[17-18]。通过探讨干旱对植物幼苗叶绿素荧光参数的影响,可有助于分析植物体内光合机构运行状况和鉴别植物的不同抵抗或忍耐干旱能力^[19-21]。

干旱胁迫下,苜蓿体内光合生理指标的变化幅度及变化类型与其抗旱性密切相关,不同品种在抗旱性方面所表现的差异,都有其相应的生理生化基础^[22]。已有的干旱胁迫对紫花苜蓿光合作用影响的研究多集中在对其光合特性及叶绿素荧光特性^[6-8]、光合速率及叶绿素荧光参数日变化规律^[23-24]等方面;而从苜蓿的水分状态、叶绿素含量、叶绿素荧光参数及膜脂过氧化作用等方面系统分析不同抗旱性苜蓿品种的光合生理适应机制的研究较少。研究不同抗旱性苜蓿品种响应干旱的光合生理机制,对发展节水农业具有重要意义。陇中苜蓿(*Medicago sativa* cv. Longzhong)属地方品种,长期生长在年降水量 200~350 mm 的黄土高原陇中干旱地区,该地区每年连续 5~6 个月的旱灾经常性发生,连续 8~9 个月旱灾时而发生,陇中苜蓿对当地的生长条件表现出极强的适应性^[25-26];陇东苜蓿(*Medicago sativa* cv. Longdong)亦属地方品种,生长于年均降水量 400~600 mm 的黄土高原陇东地区,抗旱性中等^[27];甘农 3 号紫花苜蓿(*Medicago sativa* cv. Gannong No. 3)系育成的荒漠绿洲灌区丰产型品种,抗旱性较弱^[24]。因此,通过 PEG-6000 模拟干旱对不同抗旱性苜蓿品种幼苗的叶绿素荧光参数和膜脂过氧化程度影响的比较,明确干旱胁迫下不同抗旱性苜蓿品种的光合生理反应及适应机制差异,以期为紫花苜蓿品种的选育、推广和高产栽培提供光合生理生态方面的理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

以 3 个不同抗旱性紫花苜蓿品种,强抗旱陇中苜蓿、中抗旱陇东苜蓿和弱抗旱甘农 3 号紫花苜蓿为试验材料^[28-29]。种子由甘肃农业大学草业生态系统教育部重点实验室提供。

1.2 试验方法

2017 年 9 月,在甘肃农业大学草业学院采用营养液砂培法培养幼苗。选择成熟、饱满且大小一致的苜蓿种子经 0.1% HgCl_2 溶液消毒 5 min 后,用蒸馏水反复冲洗,再用滤纸吸干,均匀播种于培养钵中。选用消毒后的细砂(121℃,高温灭菌 26 min),装入直径为

9 cm,高度为 11 cm 的营养钵中,摆放在长×宽×高为 25 cm×15 cm×10 cm 的塑料方盆中。播种后将种子转移至光照培养室中,每天光照 14 h,光通量密度 400 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,昼夜温度分别为(25±1)℃和(20±1)℃,相对湿度 60%。每天浇水保证其正常出芽,10 d 后进行间苗,每钵保留 10 株长势一致的幼苗,并采用 Hoagland 营养液浇灌。幼苗生长至 42 d 时,每隔 2 d 每盆浇灌 300 mL 含 PEG-6000(水势为-1.2 MPa)的 Hoagland 营养液进行胁迫处理,以仅含 Hoagland 营养液的处理为对照,连续培养 12 d,分别在处理后 0、3、6、9 和 12 d 取样测定各项生理指标。每处理取 3 次重复。

1.3 指标测定

1.3.1 叶绿素荧光参数测定 于光照充足的上午 9:00~11:00,采用德国 WALZ 生产的便携式调制叶绿素荧光仪 PAM-2100 对叶片进行活体测定。测定时,先将叶片置于暗中适应 20 min,之后照射测量光<0.5 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 测定初始荧光(F_0),然后照射饱和脉冲(2 800.0 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$)测定最大荧光(F_m)。接着打开内源光化光(600.0 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$),持续 5 min 后测定光适应下的稳定态荧光(F_t),隔 20 s 打开饱和脉冲(2 800.0 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$)测定光适应下的最大荧光(F_m')^[30]。根据所测定的参数计算光系统 II (PS II)潜在光化学效率(F_v/F_0)=($F_m - F_0$)/ F_0 ,PS II 最大光化学效率(F_v/F_m)=($F_m - F_0$)/ F_m ,PS II 光化学量子产量 $Yield = (F_m' - F_t) / F_m'$,表观光合电子传递速率 $ETR = Y \times PAR$ (光合有效辐射)×0.50×0.84,光化学猝灭系数 $qP = (F_m' - F_t) / (F_m' - F_0)$,非光化学猝灭系数 $qN = (F_m - F_m') / (F_m - F_0)$ 。

1.3.2 生理指标测定 叶片相对含水量采用称重法测定^[33];叶绿素含量采用丙酮乙醇混合液提取法测定^[32];超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)产生速率采用对氨基苯磺酸法测定^[32];双氧水(H_2O_2)含量采用 KI 显色法测定^[34];羟自由基($\text{OH}^{\cdot}$)浓度采用 2-脱氧-D-核糖显色法测定^[35];丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定^[36]。

1.4 数据统计分析

采用 Microsoft Excel 2010 和 Origin 8.0 软件整理数据,SPSS 19.0 软件进行数据统计分析,用最小显

著性差异法(LSD)进行差异显著性检验($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫对不同抗旱性苜蓿品种叶片相对含水量(RWC)和叶绿素(Chl)含量的影响

随胁迫时间延长,陇中苜蓿,陇东苜蓿和甘农3号苜蓿幼苗叶片的RWC、Chl a含量及Chl a/b比值不断下降,Chl b含量不断增加(图1A、1B、1C和1D)。胁迫3 d时,供试苜蓿幼苗叶片的Chl b含量显著增加,Chl a含量和Chl a/b比值显著下降。胁迫6 d时,供试苜蓿叶片的RWC显著下降。胁迫第12 d时,

陇中苜蓿,陇东苜蓿和甘农3号苜蓿幼苗叶片的RWC、Chl a含量及Chl a/b比值降至最低值,其中RWC的降幅分别为34.14%,44.64%和48.32%;而Chl b含量增至最高值,其增幅分别为100.29%,98.92%和91.93%($P<0.05$)。

品种间比较,胁迫第9~12 d时,陇中苜蓿幼苗叶片的RWC均显著高于陇东苜蓿和甘农3号苜蓿($P<0.05$)。胁迫第3~12 d时,陇中苜蓿幼苗叶片的Chl a/b比值均显著高于陇东苜蓿和甘农3号苜蓿($P<0.05$)。

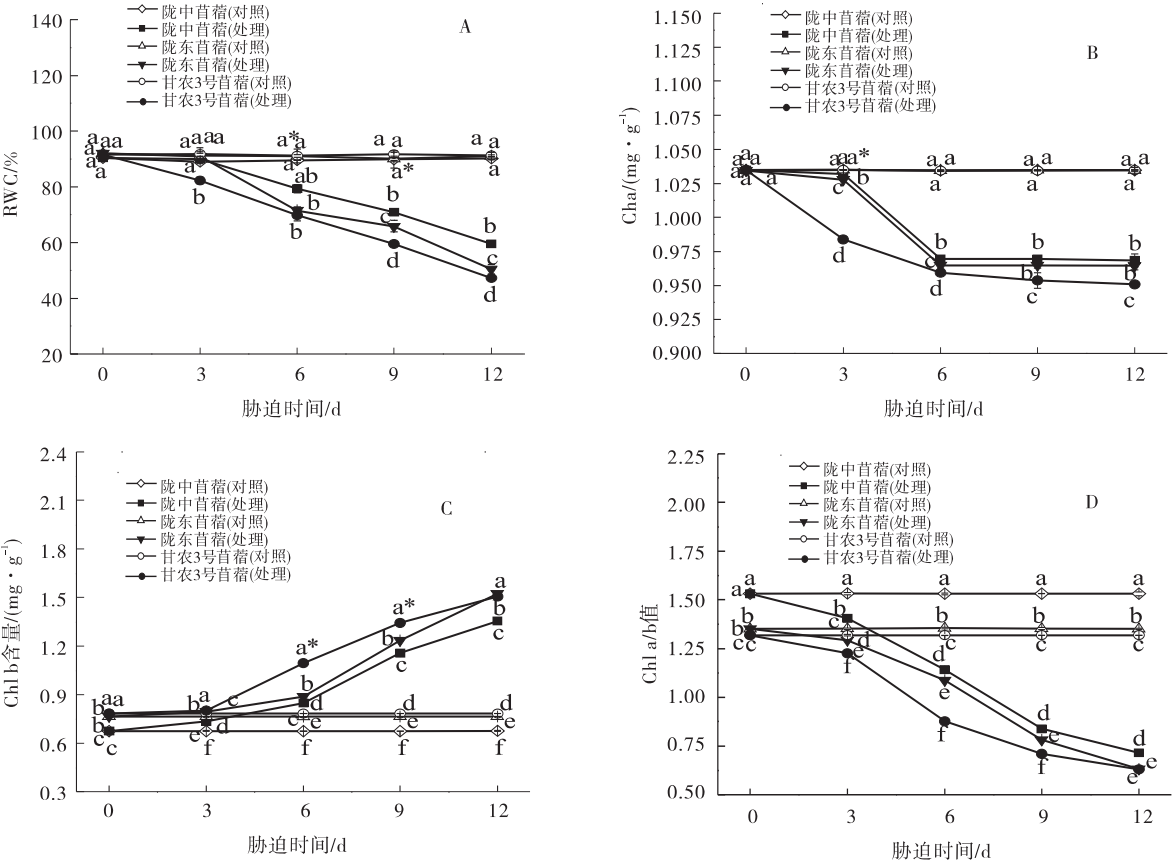


图1 不同干旱胁迫时间处理下各抗旱性苜蓿品种叶片的RWC和Chl含量

Fig. 1 Dynamics of relative water content (RWC) and chlorophyll content in leaf of different drought-tolerant alfalfa varieties under different drought stress time treatments

注:数据为平均值±标准误;不同小写字母表示同一胁迫天数处理下不同品种间差异显著($P<0.05$);*表示同一胁迫天数下,同一品种的对照与处理之间差异显著。下同

2.2 干旱胁迫对不同抗旱性苜蓿品种叶片初始荧光(F_0)和最大荧光(F_m)的影响

随胁迫天数的增加,供试苜蓿的 F_0 值呈先增加后下降的变化趋势,而 F_m 值不断下降(图2A、2B)。陇中,陇东和甘农3号苜蓿的 F_m 值在胁迫第9 d时显著下降,且在胁迫12 d时降至最低值,降幅分别为

14.26%,20.71%和29.31%($P<0.05$)。除胁迫12 d外,供试苜蓿间的 F_m 值变化差异不显著($P>0.05$)。

2.3 干旱胁迫对不同抗旱性苜蓿品种叶片潜在光化学效率(F_v/F_0)和最大光化学效率(F_v/F_m)的影响

供试苜蓿幼苗的 F_v/F_0 和 F_v/F_m 值随干旱时间的延长均呈不断下降趋势(图3A、3B)。胁迫9 d时,

陇中苜蓿, 陇东苜蓿和甘农 3 号的 F_v/F_o 和 F_v/F_m 值

均开始显著下降, 且在胁迫 12d 时降至最低值, 降幅

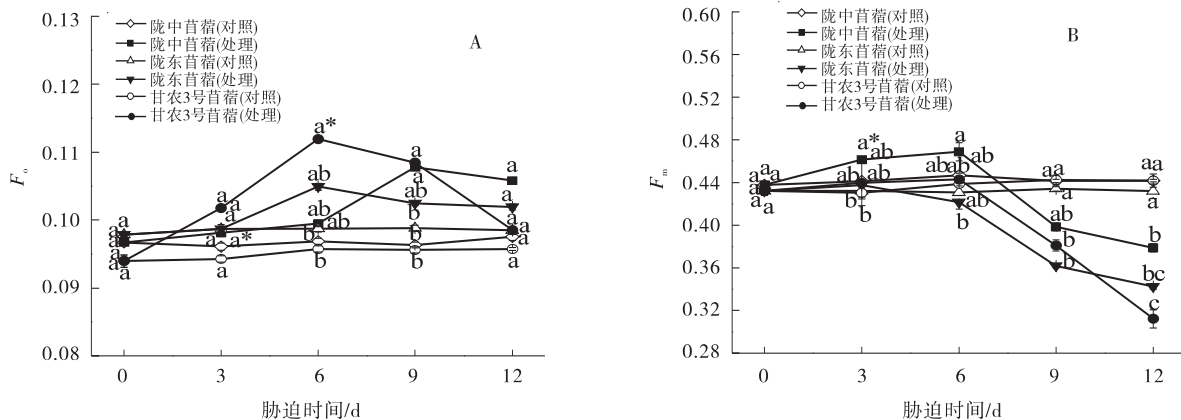


图 2 不同干旱胁迫时间处理下各抗旱性苜蓿品种叶片的 F_o 和 F_m 值

Fig. 2 Dynamics of initial fluorescence (F_o) and maximal fluorescence (F_m) in leaf of different drought-tolerant alfalfa varieties under different drought stress time treatments

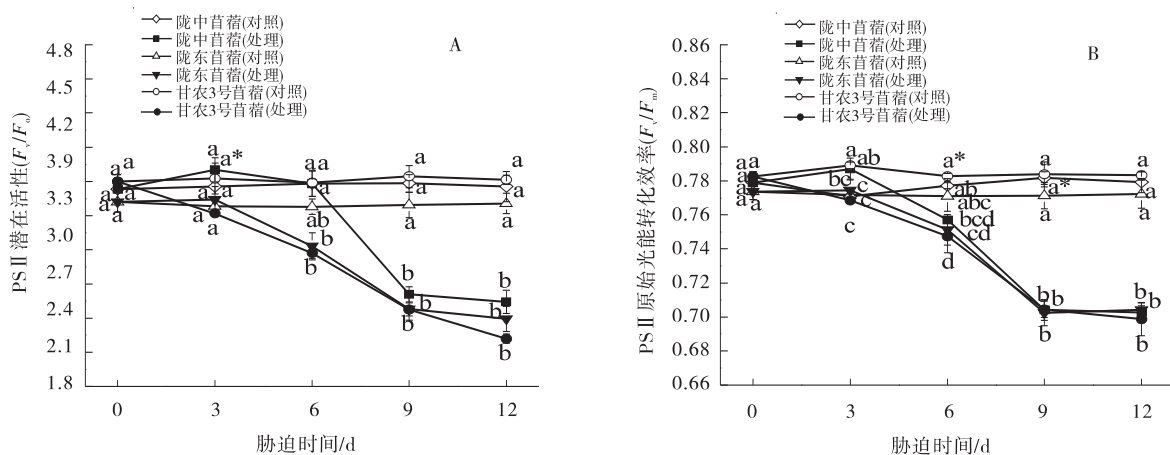


图 3 不同干旱胁迫时间处理下各抗旱性苜蓿品种叶片潜在 F_v/F_o 和 F_v/F_m 值

Fig. 3 Dynamics of potential photochemical efficiency (F_v/F_o) and the maximal chemical efficiency (F_v/F_m) in leaf of different drought-tolerant alfalfa varieties under different drought stress time treatments

分别为 28.42%, 29.77%, 38.59% 和 9.83%, 8.80%, 10.79% ($P < 0.05$)。品种间比较, 陇中苜蓿的 F_v/F_o 值仅在胁迫第 6 d 时显著高于陇东苜蓿和甘农 3 号, 而在其他胁迫时间下, 三者的 F_v/F_o 和 F_v/F_m 值差异不显著。

2.4 干旱胁迫对不同抗旱性苜蓿品种叶片光化学淬灭系数(qP)和非光化学淬灭系数(qN)的影响

随胁迫时间的延长, 供试苜蓿幼苗的 qP 不断下降; 陇中苜蓿和陇东苜蓿的 qN 不断升高, 而甘农 3 号的 qN 呈先升高后下降的变化趋势(图 4A, 4B)。胁迫第 6 d, 陇中苜蓿, 陇东苜蓿和甘农 3 号的 qP 均显著下降, 且在胁迫第 12 d 时降至最低值, 降幅分别为

39.39%, 45.74% 和 65.05% ($P < 0.05$)。供试苜蓿幼苗的 qN 均在胁迫 6 d 时显著增加, 其中甘农 3 号的 qN 在胁迫第 9 d 时增至最大值, 而陇中苜蓿和陇东苜蓿在胁迫第 12 d 时增至最大值, 增幅分别为 78.80% 和 82.26% ($P < 0.05$)。品种间比较, 甘农 3 号的 qP 和 qN 在胁迫 9 d 时显著高于陇中苜蓿和陇东苜蓿; 而其 qN 在胁迫 12 d 时显著低于陇中苜蓿和陇东苜蓿 ($P < 0.05$)。

2.5 干旱胁迫对不同抗旱性苜蓿品种光系统 II 实际光化学量子产量(Yield)及表观光合电子传递速率(ETR)的影响

供试苜蓿的 Yield 和 ETR 随胁迫时间延长呈不

断下降的趋势(图 5A,5B)。陇中苜蓿,陇东苜蓿和甘农 3 号的 $Yield$ 和 ETR 均在胁迫第 6 d 时显著下降,且在胁迫第 12 d 时降至最低值,降幅分别为 44.91%,56.65%,60.63%和 36.50%,51.10%,52.89% ($P <$

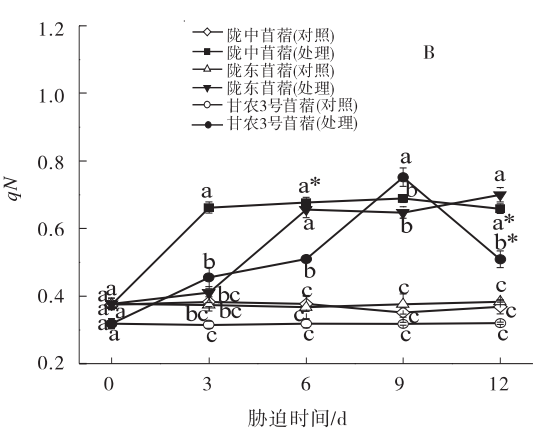
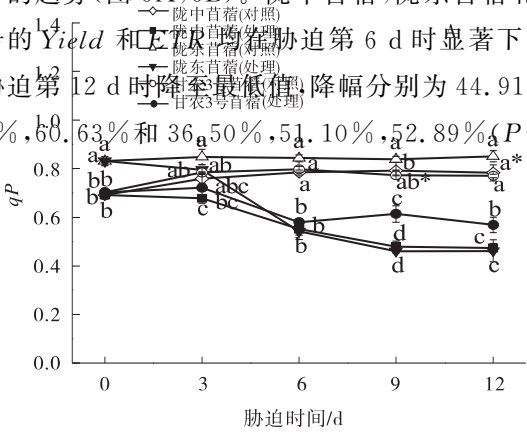


图 4 不同干旱胁迫时间处理下各抗旱性苜蓿品种叶片的 qP 和 qN 值

Fig. 4 Dynamics of photochemical quenching (qP) and non-photochemical quenching (qN) in leaf of different drought-tolerant alfalfa varieties under different drought stress time treatments

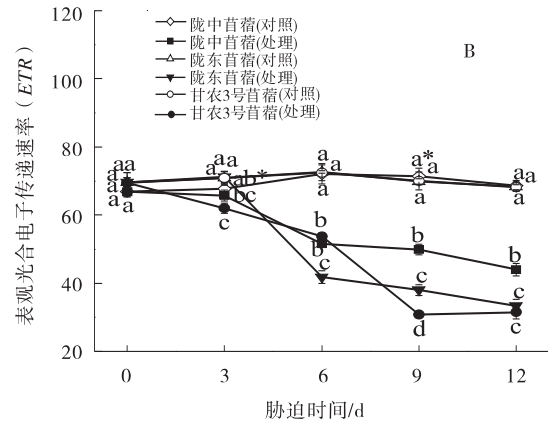
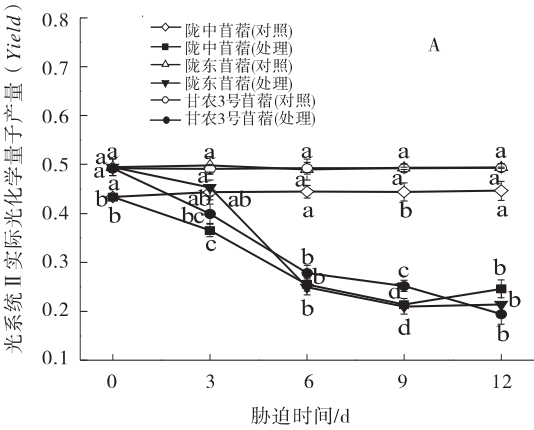


图 5 不同干旱胁迫时间处理下各抗旱性苜蓿品种叶片的 $Yield$ 和 ETR 值

Fig. 5 Dynamics of photochemical quantum yield of photosystem II ($Yield$) and photosynthetic electron transport rate (ETR) in leaf of different drought-tolerant alfalfa varieties under different drought stress time treatments

0.05)。胁迫第 9 d 时,陇中苜蓿的 $Yield$ 和 ETR 均显著高于陇东苜蓿和甘农 3 号 ($P < 0.05$);胁迫第 12 d 时,陇中苜蓿的 ETR 较陇东苜蓿和甘农 3 号分别高出 31.77%和 39.43% ($P < 0.05$)。

2.6 干旱胁迫对不同抗旱性苜蓿品种叶片活性氧 ($O_2^{\cdot -}$, H_2O_2 和 $OH^{\cdot}$) 与丙二醛 (MDA) 含量的影响

随胁迫天数的增加,供试苜蓿幼苗 $O_2^{\cdot -}$ 产生速率, H_2O_2 含量, $OH^{\cdot}$ 浓度和 MDA 含量均不断增加(图 6A, 6B, 6C 和 6D)。胁迫 3 d 时,供试苜蓿的 MDA 含量均显著增加,陇中苜蓿和陇东苜蓿 $O_2^{\cdot -}$ 产生速率也显著增加。胁迫 6 d 时,甘农 3 号的活性氧 (H_2O_2 , $OH^{\cdot}$ 和 $O_2^{\cdot -}$) 含量显著增加;陇东苜蓿的 H_2O_2 含量和 $OH^{\cdot}$ 浓度也显著增加,而陇中苜蓿幼苗的 H_2O_2 含量和 $OH^{\cdot}$ 浓度自胁迫 9 d 时显著增加。胁迫第 12 d,供试苜蓿幼苗的活性氧 (H_2O_2 , $OH^{\cdot}$ 和

$O_2^{\cdot -}$ 和 MDA 含量均达到最高值。其中,陇中,陇东和甘农 3 号苜蓿叶片 MDA 含量的增幅为 240.14%, 352.61% 和 279.61% ($P < 0.05$)。品种间比较,陇中苜蓿的 H_2O_2 和 $OH^{\cdot}$ 含量在胁迫 12 d 时均最低,分别较陇东苜蓿和甘农 3 号低出 12.36%、25.78%、17.39% 和 18.41% ($P < 0.05$)。

2.7 不同抗旱性苜蓿品种各抗旱生理指标间关联性特征及主要成分分析

相关性分析表明,品种间比较,陇中苜蓿叶片内, RWC 与 $Chl a/b$ ($r = 0.901, P < 0.01$) 正相关,与 $Chl b$ ($r = -0.918, P < 0.01$) 负相关,与 MDA ($r = -0.908, P < 0.01$) 负相关; F_v/F_o 与 F_v/F_m ($r = 0.912, P < 0.01$) 正相关, qP 与 $Yield$ ($r = 0.936, P < 0.01$) 正相关, qP 与 qN ($r = -0.839, P < 0.01$) 负相关; ETR 与 $Yield$ ($r = 0.933, P < 0.01$) 正相关; MDA 与 $O_2^{\cdot -}$ ($r = 0.928, P < 0.01$)、 H_2O_2 ($r = 0.969, P < 0.01$) 和 $OH^{\cdot}$ ($r = 0.974, P < 0.01$) 均呈正相关。陇东

苜蓿叶片内, RWC 与 $Chl a/b$ ($r = 0.933, P < 0.01$) 正相关,与 $Chl b$ ($r = -0.928, P < 0.01$) 负相关,与 MDA ($r = -0.938, P < 0.01$) 负相关; F_v/F_o 与 F_v/F_m ($r = 0.980, P < 0.01$) 正相关, qP 与 $Yield$ ($r = 0.967, P < 0.01$) 正相关, qP 与 qN ($r = -0.915, P < 0.01$) 负相关, ETR 与 $Yield$ ($r = 0.952, P < 0.01$) 正相关; MDA 与 $O_2^{\cdot -}$ ($r = 0.975, P < 0.01$)、 H_2O_2 ($r = 0.981, P < 0.01$) 和 $OH^{\cdot}$ ($r = 0.973, P < 0.01$) 均呈正相关。甘农 3 号叶片内, RWC 与 $Chl a/b$ ($r = 0.900, P < 0.01$) 正相关,与 $Chl b$ ($r = -0.833, P < 0.01$) 负相关,与 MDA ($r = -0.777, P < 0.01$) 负相关; F_v/F_o 与 F_v/F_m ($r = 0.966, P < 0.01$) 正相关, qP 与 $Yield$ ($r = 0.842, P < 0.01$) 正相关, ETR 与 $Yield$ ($r = 0.939, P < 0.01$) 正相关; MDA 与 $O_2^{\cdot -}$ ($r = 0.993, P < 0.01$)、 H_2O_2 ($r = 0.984, P < 0.01$) 和 $OH^{\cdot}$ ($r = 0.979, P < 0.01$) 均呈正相关(表 1, 2 和 3)。

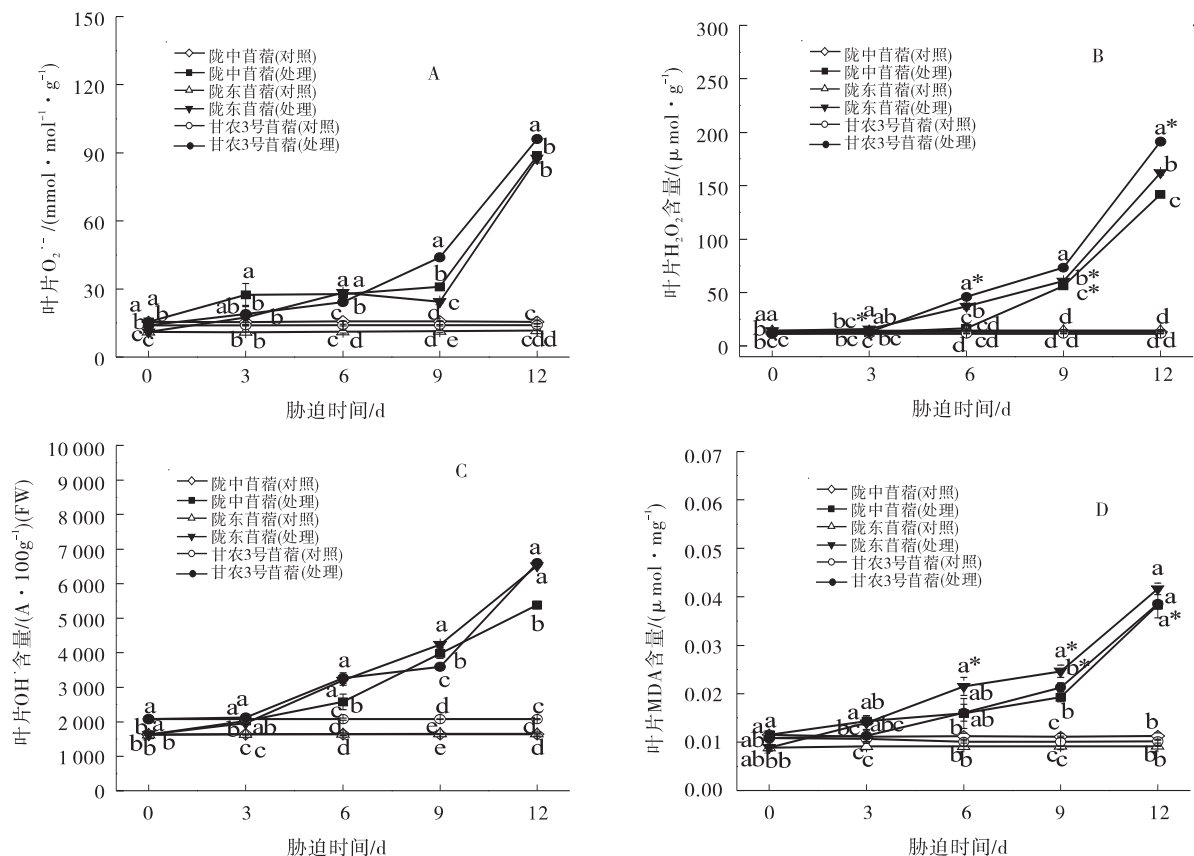


图 6 不同干旱胁迫时间处理下各抗旱性苜蓿品种叶片活性氧(H_2O_2 , $OH^{\cdot}$ 和 $O_2^{\cdot -}$)与 MDA 含量

Fig. 6 Dynamics of reactive oxygen species (H_2O_2 , $OH^{\cdot}$, and $O_2^{\cdot -}$) and malondialdehyde (MDA) in leaf of different drought-tolerant alfalfa varieties under different drought stress time treatments

表 1 干旱胁迫下陇中苜蓿各项耐旱性状相关系数矩阵

Table 1 Correlation matrix of every single index in *Medicago sativa* cv. Longzhong under drought stress

	<i>RWC</i>	<i>Chl a</i>	<i>Chl b</i>	<i>Chl a/b</i>	F_o	F_m	F_v/F_o	F_v/F_m	qP	qN	<i>ETR</i>	<i>Yield</i>	$O_2^{* -}$	H_2O_2	$OH^{\cdot}$	MDA
<i>RWC</i>	1															
<i>Chl a</i>	0.828 **	1														
<i>Chl b</i>	-0.918 **	-0.869 **	1													
<i>Chl a/b</i>	0.901 **	0.940 **	-0.981 **	1												
F_o	-0.500 **	-0.563 **	0.627 **	-0.637 **	1											
F_m	0.557 **	0.395 *	-0.640 **	0.557 **	-0.432 *	1										
F_v/F_o	0.695 **	0.639 **	-0.803 **	0.765 **	-0.819 **	0.855 **	1									
F_v/F_m	0.848 **	0.801 **	-0.892 **	0.885 **	-0.728 **	0.726 **	0.912 **	1								
qP	0.795 **	0.908 **	-0.872 **	0.922 **	-0.560 **	0.415 *	0.640 **	0.777 **	1							

续表 1

	<i>RWC</i>	<i>Chl a</i>	<i>Chl b</i>	<i>Chl a/b</i>	<i>F_o</i>	<i>F_m</i>	<i>F_v/F_o</i>	<i>F_v/F_m</i>	<i>qP</i>	<i>qN</i>	<i>ETR</i>	<i>Yield</i>	<i>O₂ ·⁻</i>	<i>H₂O₂</i>	<i>OH ·</i>	MDA
<i>qN</i>	-0.604**	-0.805**	0.716**	-0.804**	0.507**	-0.180	-0.443*	-0.585**	-0.839**	1						
<i>ETR</i>	0.878**	0.962**	-0.922**	0.961**	-0.582**	0.488**	0.698**	0.833**	0.918**	-0.793**	1					
<i>Yield</i>	0.768**	0.948**	-0.852**	0.928**	-0.540**	0.373*	0.608**	0.769**	0.936**	-0.878**	0.933**	1				
<i>O₂ ·⁻</i>	-0.823**	-0.686**	0.886**	-0.828**	0.488**	-0.586**	-0.673**	-0.716**	-0.705**	0.586**	-0.807**	-0.659**	1			
<i>H₂O₂</i>	-0.876**	-0.685**	0.930**	-0.852**	0.516**	-0.666**	-0.741**	-0.790**	-0.701**	0.510**	-0.796**	-0.641**	0.959**	1		
<i>OH ·</i>	-0.907**	-0.778**	0.956**	-0.913**	0.524**	-0.612**	-0.723**	-0.818**	-0.763**	0.655**	-0.854**	-0.740**	0.930**	0.961**	1	
MDA	-0.908**	-0.792**	0.981**	-0.936**	0.551**	-0.650**	-0.759**	-0.835**	-0.804**	0.641**	-0.871**	-0.764**	0.928**	0.969**	0.974**	1

注：*、**分别表示在 5%和 1%水平显著性，下同

表 2 干旱胁迫下陇东苜蓿各项耐旱性状相关系数矩阵

Table 2 Correlation matrix of every single index in *Medicago sativa* cv. Longdong under drought stress

	<i>RWC</i>	<i>Chl a</i>	<i>Chl b</i>	<i>Chl a/b</i>	F_o	F_m	F_v/F_o	F_v/F_m	<i>qP</i>	<i>qN</i>	<i>ETR</i>	<i>Yield</i>	$O_2 \cdot^-$	H_2O_2	$OH \cdot$	MDA
<i>RWC</i>	1															
<i>Chl a</i>	0.867 **	1														
<i>Chl b</i>	-0.928 **	-0.820 **	1													
<i>Chl a/b</i>	0.933 **	0.914 **	-0.979 **	1												
F_o	-0.182	-0.285	0.159	-0.204	1											
F_m	0.773 **	0.694 **	-0.849 **	0.836 **	0.226	1										
F_v/F_o	0.801 **	0.815 **	-0.854 **	0.877 **	-0.430 *	0.760 **	1									
F_v/F_m	0.795 **	0.808 **	-0.855 **	0.879 **	-0.397 *	0.766 **	0.980 **	1								
<i>qP</i>	0.874 **	0.964 **	-0.857 **	0.933 **	-0.242	0.736 **	0.828 **	0.820 **	1							
<i>qN</i>	-0.855 **	-0.950 **	0.819 **	-0.893 **	0.334	-0.650 **	-0.805 **	-0.778 **	-0.915 **	1						
<i>ETR</i>	0.886 **	0.986 **	-0.859 **	0.933 **	-0.240	0.738 **	0.828 **	0.817 **	0.956 **	-0.950 **	1					
<i>Yield</i>	0.852 **	0.966 **	-0.830 **	0.914 **	-0.283	0.671 **	0.793 **	0.797 **	0.967 **	-0.932 **	0.952 **	1				
$O_2 \cdot^-$	-0.886 **	-0.706 **	0.903 **	-0.850 **	0.125	-0.727 **	-0.695 **	-0.670 **	-0.722 **	0.730 **	-0.757 **	-0.699 **	1			
H_2O_2	-0.914 **	-0.744 **	0.957 **	-0.906 **	0.154	-0.789 **	-0.792 **	-0.789 **	-0.768 **	0.758 **	-0.795 **	-0.750 **	0.974 **	1		
$OH \cdot$	-0.945 **	-0.835 **	0.965 **	-0.952 **	0.148	-0.818 **	-0.813 **	-0.799 **	-0.853 **	0.825 **	-0.856 **	-0.829 **	0.930 **	0.955 **	1	
MDA	-0.938 **	-0.826 **	0.960 **	-0.939 **	0.186	-0.783 **	-0.799 **	-0.780 **	-0.840 **	0.838 **	-0.862 **	-0.822 **	0.975 **	0.981 **	0.973 **	1

表 3 干旱胁迫下甘农 3 号各项耐旱性状相关系数矩阵

Table 3 Correlation matrix of every single index in *Medicago sativa* cv. Gannong No. 3 under drought stress

[illegible]

F_v/F_m	0.842**	0.864**	-0.932**	0.930**	-0.599**	0.819**	0.966**	1										
qP	0.751**	0.753**	-0.872**	0.840**	-0.310	0.852**	0.821**	0.798**	1									
qN	-0.801**	-0.844**	0.771**	-0.825**	0.686**	-0.533**	-0.799**	-0.844**	-0.512**	1								
ETR	0.874**	0.903**	-0.965**	0.965**	-0.532**	0.817**	0.921**	0.916**	0.784**	-0.848**	1							
$Yield$	0.892**	0.963**	-0.944**	0.975**	-0.644**	0.738**	0.919**	0.890**	0.842**	-0.797**	0.939**	1						
$O_2^{\cdot-}$	-0.755**	-0.724**	0.912**	-0.849**	0.215	-0.960**	-0.846**	-0.823**	-0.924**	0.525**	-0.850**	-0.824**	1					
H_2O_2	-0.702**	-0.679**	0.869**	-0.806**	0.170	-0.923**	-0.792**	-0.757**	-0.932**	0.425*	-0.770**	-0.789**	0.980**	1				
$OH^{\cdot}$	-0.753**	-0.746**	0.909**	-0.862**	0.275	-0.907**	-0.839**	-0.798**	-0.925**	0.513**	-0.829**	-0.841**	0.969**	0.980**	1			
MDA	-0.777**	-0.771**	0.921**	-0.871**	0.272	-0.940**	-0.864**	-0.838**	-0.935**	0.547**	-0.857**	-0.857**	0.993**	0.984**	0.979**	1		

主成分分析表明,干旱胁迫下,决定陇中苜蓿抗旱性第 1 主成分大小的主要是 qN 、 $Yield$ 、 $Chl a$ 、 qP 、 ETR ,第 2 主成分大小的主要是 F_m ,两个主成分均与叶绿素荧光特性相关的性状。决定陇东苜蓿抗旱性第 1 主成分大小的主要是 $Chlb$ 、 $OH^{\cdot}$ 、MDA、 $Chl a/b$ 、 H_2O_2 ,可以概括为叶绿素及膜脂过氧化因子;决定甘农 3 号苜蓿抗旱性第 1 主成分大小的主要是 H_2O_2 、 $O_2^{\cdot-}$ 、MDA、 F_m 、 $OH^{\cdot}$,可概括为膜脂过氧化因子;此外,决定陇东苜蓿和甘农 3 号苜蓿第 2 主成分大小的都是 F_o (表 4)。

表 4 干旱胁迫下各抗旱性苜蓿品种主成分特征向量及贡献率

Table 4 Eigenvectors and percentages of accumulated contribution of principal components in different drought-tolerant alfalfa varieties under drought stress

	陇中苜蓿		陇东苜蓿		甘农 3 号苜蓿	
	成分 1	成分 2	成分 1	成分 2	成分 1	成分 2
RWC	0.649	0.650	0.937	0.191	0.579	0.709
$Chl a$	0.881	0.383	0.842	0.430	0.514	0.810
$Chl b$	-0.694	-0.706	-0.966	-0.138	-0.776	-0.609
$Chl a/b$	0.803	0.588	0.957	0.248	0.679	0.717
F_o	-0.389	-0.564	0.020	-0.930	0.065	-0.921
F_m	0.020	0.911	0.912	-0.178	0.931	0.239
F_v/F_o	0.310	0.877	0.800	0.460	0.664	0.706
F_v/F_m	0.538	0.765	0.798	0.438	0.646	0.706
qP	0.871	0.386	0.868	0.374	0.876	0.348
qN	-0.917	-0.129	-0.823	-0.451	-0.281	-0.888
ETR	0.837	0.500	0.881	0.367	0.674	0.692
$Yield$	0.916	0.318	0.835	0.426	0.645	0.733
$O_2^{\cdot-}$	-0.534	-0.712	-0.910	-0.020	-0.951	-0.293
H_2O_2	-0.476	-0.807	-0.943	-0.073	-0.966	-0.210
$OH^{\cdot}$	-0.611	-0.720	-0.965	-0.122	-0.925	-0.321
MDA	-0.612	-0.744	-0.957	-0.141	-0.934	-0.341
特征值	12.437	1.486	12.954	1.363	13.047	1.848
贡献率/%	77.733	9.290	80.959	8.517	81.545	11.547
累计百分率/%	77.733	87.023	80.959	89.477	81.545	93.092

3 讨论

植物吸收光能后主要有热耗散、光合作用和荧光 3 个去向。其中,绝大部分光能以热耗散的形式释放,而用于进行光合作用的光能不足吸收光能的 20%,还有一部分光能以叶绿素荧光方式释放,三者之间此消

彼长^[18]。光合作用是植物生长的基础,是植物生产力构成的最主要因素。干旱胁迫会抑制光合作用光反应中心电子传递、光能转换、光合磷酸化及光合作用暗反应等一系列过程^[37-38]。叶绿素荧光参数(如 F_o 、 F_m 、 F_v/F_o 、 F_v/F_m 、 $Yield$ 、 ETR 、 qP 和 qN)可以更好地从内部快速灵敏、无损伤地反映 PSⅡ 的状态,成为分析

评价植物光合机构的功能以及环境胁迫对其影响的重要参数^[20-21,39-40]。叶绿素荧光淬灭系数有 qP 和 qN 两种,其中 qP 反映的是 PS II 天线色素吸收的光能用于光化学电子传递的份额,而 qN 反映的是 PS II 天线色素吸收的光能不能用于光合电子传递而以热的形式耗散掉的光能部分^[17]。通过对不同抗旱性苜蓿品种幼苗叶片的叶绿素荧光参数分析,结果发现,干旱胁迫下,供试苜蓿幼苗的 qN 显著增加,而 F_m 、 F_v/F_o 、 F_v/F_m 、 qP 、 $Yield$ 和 ETR 显著降低,说明干旱胁迫破坏了供试苜蓿的 PS II 反应中心,抑制了 PS II 光化学活性,降低了 PS II 原初光能转化效率,使 PS II 潜在活性受损,进而破坏了紫花苜蓿的光合作用原初反应过程。这与前人对于干旱胁迫下,番茄 (*Lycopersicon esculentum*)^[1]、甜菜 (*Beta vulgaris*)^[9]、花生 (*Arachis hypogaea*)^[10]、玉米 (*Zea mays*)^[39] 和小麦 (*Triticum aestivum*)^[4,10] 等叶绿素荧光参数变化的研究结果一致。

供试苜蓿幼苗叶片的叶绿素荧光参数变化对于干旱胁迫表现相同和差异的响应特征。苜蓿的 qP 、 $Yield$ 和 ETR 均在胁迫第 6 d 时显著下降,而 F_m 、 F_v/F_o 和 F_v/F_m 则均在胁迫第 9 d 时显著降低,说明超过一定胁迫时间的水分亏缺会引发苜蓿植株光合机构的异常,同时影响光合电子的传递,进而降低了紫花苜蓿的光合作用。相比之下,干旱胁迫下,叶绿素荧光参数 (F_m 、 F_v/F_o 、 F_v/F_m 、 qP 、 $Yield$ 和 ETR) 的降幅以强抗旱陇中苜蓿最低,弱抗旱甘农 3 号最高,且在胁迫第 12 d 时,陇中苜蓿的 qP 和 ETR 均显著高于陇东苜蓿和甘农 3 号。干旱胁迫第 3~12 d 时,供试苜蓿的 qN 均显著增加,但胁迫时间超过 9 d 时,甘农 3 号 qN 的增幅降低。说明供试苜蓿均能以热耗散的形式散失叶片吸收的热能,以防御光抑制带来的破坏,从而保护 PS II 免受伤害,但甘农 3 号的热耗散能力在胁迫超过 9 d 时显著下降。陇中苜蓿的光合结构受破坏的程度低于陇东苜蓿和甘农 3 号,从而表现出较强的非辐射热耗散能力和较高的电子传递速率。这与李超等^[24]、谢燕等^[41] 和张仁和等^[42] 的研究结果一致,但与韩瑞宏等^[6] 的研究结果不同,可能是由于干旱胁迫下,除 PS II 反应中心电子传递活性外,其他因素也会引起苜蓿光合机构的损伤。因此,试验加入叶片 RWC 、叶绿素含量及活性氧产生速率等指标以系统分析不同抗旱性苜蓿品种响应干旱胁迫的光合生理差异^[15-16]。

干旱胁迫下,植物的 PS II 活性降低导致激发能的上升,引起能量过剩,产生过量的活性氧 (ROS),若不及时清除 ROS 会造成氧化胁迫^[12,43]。研究表明,随胁迫时间的增加,供试苜蓿的 RWC 不断下降,而活性氧 ($O_2^{\cdot -}$ 、 H_2O_2 和 $OH^{\cdot}$) 和 MDA 含量均持续增加,说明持续干旱胁迫会引起苜蓿细胞脱水,破坏苜蓿体内 ROS 的产生与清除平衡状态,细胞内 ROS 的大量积累加剧了膜脂过氧化作用,导致光合器官结构与功能的破坏及细胞内物质和能量代谢的失调,最终降低了叶片光合能力^[44]。叶绿素含量、叶绿素成分组成及比例在不同植物间有着不同的变化^[2,12]。Guo 等^[12] 研究发现,干旱胁迫下,黑果枸杞 (*Lycium ruthenicum*) 的 $Chl a$ 、 $Chl b$ 和 $Chl(a+b)$ 的含量降低且 $Chl a/b$ 比率增加。而此次研究发现,随胁迫时间延长,供试苜蓿的 $Chl a$ 含量和 $Chl a/b$ 比值不断下降,而 $Chl b$ 含量却持续增加,可能是由于干旱胁迫下, $Chl a$ 对 ROS 的反应较 $Chl b$ 敏感, $Chl a$ 含量的大幅降低引起了 $Chl a/b$ 比值的下降^[45]。胁迫第 3~9 d 时,陇中苜蓿的 RWC 和 $Chl a/b$ 比值显著高于陇东苜蓿和甘农 3 号,而 H_2O_2 含量和 $OH^{\cdot}$ 浓度显著低于陇东苜蓿和甘农 3 号,说明一定干旱胁迫条件下,陇中苜蓿具有较高的 RWC 和 $Chl a/b$ 比值,叶片遭受 ROS 的氧化损伤程度较轻,从而表现出较强的抗旱性;而当胁迫时间超过 9 d 时,供试苜蓿的 MDA 含量变化差异不显著,说明干旱胁迫对供试苜蓿的膜系统均会造成严重的氧化损伤,供试苜蓿抗旱能力的差异可能与其体内酶促及非酶促抗氧化系统的协调能力有关。

通过相关性分析所测指标间的相关密切程度及其与苜蓿抗旱能力的关系,结果发现,除 F_o 外,其他指标间的相关密切程度均较高,说明干旱胁迫下,供试苜蓿叶绿素荧光参数变化及其体内膜脂过氧化程度能够同时反映供试苜蓿的抗旱能力强弱。采用主成分分析进一步鉴定出对供试苜蓿抗旱能力贡献较大的指标,其中对陇中苜蓿抗旱能力影响最大的主要为叶绿素荧光特性因子,而对陇东苜蓿和甘农 3 号抗旱能力影响最大的指标主要为膜脂过氧化因子。说明随胁迫时间延长,不同抗旱性苜蓿品种体内的生理指标响应干旱胁迫的敏感性不同。干旱胁迫对陇中苜蓿的叶绿素荧光参数影响较小,但却显著增加了陇东苜蓿和甘农 3 号叶片内 $OH^{\cdot}$ 、 H_2O_2 、 $O_2^{\cdot -}$ 和 MDA 含量,这可能也是陇中苜蓿具有强抗旱性的重要生理原因。然而,试

验仅从叶绿素荧光特性和膜脂过氧化程度的变化角度研究了不同抗旱性苜蓿品种响应干旱胁迫的生理机制。有关干旱胁迫下不同抗旱性苜蓿品种叶片 PS II 光能利用与活性氧代谢协同调控的分子机制还需进一步深入研究。

4 结 论

随干旱胁迫时间延长,陇中苜蓿、陇东苜蓿和甘农 3 号幼苗的 RWC 、 $Chl a$ 含量、 $Chl a/b$ 比值、 F_m 、 F_v/F_o 、 F_v/F_m 、 qP 、 $Yield$ 和 ETR 不断下降;而 $Chl b$ 含量、 $ROS(O_2^{\cdot-}, H_2O_2$ 和 $OH^{\cdot})$ 和 MDA 含量不断增加。但陇中苜蓿叶片 RWC 、 $Chl a$ 含量、 F_m 、 F_v/F_o 、 F_v/F_m 、 $Yield$ 和 ETR 的降幅及 H_2O_2 和 MDA 含量的增幅均低于陇东苜蓿和甘农 3 号。供试苜蓿叶片的 RWC 、 $Chl a$ 、 $Chl a/b$ 、 F_m 与 F_v/F_o 、 F_v/F_m 、 ETR 、 $Yield$ 均呈极显著正相关, RWC 、 $Chl a$ 、 $Chl a/b$ 、 F_m 、 F_v/F_m 、 qP 、 ETR 、 $Yield$ 与 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 、 $OH^{\cdot}$ 、MDA 均呈极显著负相关。其中,对陇中苜蓿抗旱性影响最大的主要为叶绿素荧光特性因子,而对陇东苜蓿和甘农 3 号抗旱性影响最大的主要为膜脂过氧化因子。相比陇东苜蓿和甘农 3 号,陇中苜蓿的各项叶绿素参数受干旱影响小,其抗旱的重要生理原因是具有较强的叶片保水能力,较低的光合机构损伤及膜脂过氧化程度。

参考文献:

- [1] Zhang J, Liu J F, Zhao T T, *et al.* Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence in tomato[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2017, 8(7): 65—69.
- [2] Zegaoui Z, Planchais S, Cabassa C, *et al.* Variation in relative water content, proline accumulation and stress gene expression in two cowpea landraces under drought[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2018, 218: 26—34.
- [3] 马彦麟, 齐广平, 汪精海, 等. 西北荒漠灌区紫花苜蓿产量和营养品质对水肥调控的响应[J]. *甘肃农业大学学报*, 2018, 53(6): 171—179.
- [4] 尹辉, 王琦, 师尚礼, 等. 灌溉和施氮对种植第 2 年紫花苜蓿产量、水分利用效率及土壤全氮含量的影响[J]. *草原与草坪*, 2012, 32(4): 1—7.
- [5] 汪本福, 黄金鹏, 杨晓龙, 等. 干旱胁迫抑制作物光合作用机理研究进展[J]. *湖北农业科学*, 2014, 53(23): 5628—5632.
- [6] 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.
- [7] 李文尧, 张岁岐, 山仑. 水分胁迫和复水对紫花苜蓿幼苗叶绿素荧光特性的影响[J]. *草地学报*, 2007, 15(2): 129—136.
- [8] 李立辉, 王岩, 胡海燕, 等. 初花期干旱对不同抗旱性紫花苜蓿光合特征及荧光参数的影响[J]. *华北农学报*, 2015, 30(4): 126—131.
- [9] Li G L, Wu H X, Sun Y Q, *et al.* Response of chlorophyll fluorescence parameters to drought stress in sugar beet seedlings[J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2013, 60(3): 337—342.
- [10] Shahenshah, Isoda A. Effects of water stress on leaf temperature and chlorophyll fluorescence parameters in cotton and peanut [J]. *Plant Production Science*, 2010, 13(3): 269—278.
- [11] Mathobo R, Marais D, Steyn J M. The effect of drought stress on yield, leaf gaseous exchange and chlorophyll fluorescence of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) [J]. *Agricultural Water Management*, 2017, 180: 118—125.
- [12] Guo Y Y, Yu H Y, Kong D S, *et al.* Effects of drought stress on growth and chlorophyll fluorescence of *Lycium ruthenicum* Murr. seedlings[J]. *Photosynthetica*, 2016, 54(4): 524—531.
- [13] Gholamin R, Khayatnezhad M. The effect of end season drought stress on the chlorophyll content, chlorophyll fluorescence parameters and yield in maize cultivars[J]. *Scientific Research and Essays*, 2011, 25(25): 2297—2303.
- [14] Paknejad F, Nasri M, Moghadam H R T, *et al.* Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars [J]. *Journal of Biological Sciences*, 2007, 7(6): 841—847.
- [15] Earl H J. Stomatal and non-stomatal restrictions to carbon assimilation in soybean (*Glycine max*) lines differing in water use efficiency[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2002, 48(3): 237—246.
- [16] Zhou S, Duursma R A, Medlyn B E, *et al.* How should we model plant responses to drought An analysis of stomatal and non-stomatal responses to water stress[J]. *Agricultural and Forest Meteorology*, 2013, 182—183(22): 204—214.
- [17] 冯建灿, 胡秀丽, 毛训甲. 叶绿素荧光动力学在研究植物

- 逆境生理中的应用[J]. 经济林研究, 2002(4):14—18.
- [18] 于海业, 张雨晴, 刘爽, 等. 植物叶绿素荧光光谱的研究进展[J]. 北方园艺, 2017(24):194—198.
- [19] Razavi F, Pollet B, Steppe K, *et al.* Chlorophyll fluorescence as a tool for evaluation of drought stress in strawberry[J]. *Photosynthetica*, 2008, 46(4):631—633.
- [20] Na Y W, Jeong H J, Lee S Y, *et al.* Chlorophyll fluorescence as a diagnostic tool for abiotic stress tolerance in wild and cultivated strawberry species[J]. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 2014, 55(4):280—286.
- [21] Banks J M. Chlorophyll fluorescence as a tool to identify drought stress in *Acer* genotypes[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2018, 155:118—127.
- [22] 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):184—189.
- [23] 徐丽君, 王波, 玉柱. 两种紫花苜蓿品种光合特性的研究[J]. 中国农业科技导报, 2008(3):102—106.
- [24] 李超, 王育青, 高丽, 等. 九个苜蓿品种叶绿素荧光参数与叶水势日变化研究[J]. 中国草地学报, 2012, 34(2):23—29.
- [25] 王谦. 中国干旱、半干旱地区的分布及其主要气候特征[J]. 干旱地区农业研究, 1983, 1:11—24.
- [26] Fan J W, Du Y L, Turner N C, *et al.* Changes in root morphology and physiology to limited phosphorus and moisture in a locally-selected cultivar and an introduced cultivar of *Medicago sativa* L. growing in alkaline soil[J]. *Plant & Soil*, 2015, 392(1—2):215—226.
- [27] 李文尧, 张岁岐, 山仑. 苜蓿叶片及根系对水分亏缺的生理生化响应[J]. 草地学报, 2007, 15(4):299—305.
- [28] 张翠梅, 师尚礼, 吴芳. 干旱胁迫对不同抗旱性苜蓿品种根系生长及生理特性影响[J]. 中国农业科学, 2018, 51(5):868—882.
- [29] Zhang C M, Shi S L, Wang B W, *et al.* Physiological and biochemical changes in different drought-tolerant alfalfa (*Medicago sativa*) varieties under PEG-induced drought stress[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2018, 40:25.
- [30] 陶文文, 蒋文伟, 赵丽娟. 3 个钩钟柳品种叶绿素荧光特性比较[J]. 浙江农林大学学报, 2011, 28(3):367—371.
- [31] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [32] Lichtenthaler H K, Wellburn A R. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents[J]. *Biochemical Society Transactions*, 1983, 11(5):591—592.
- [33] Elstner E F, Heupel A. Formation of hydrogen peroxide by isolated cell walls from Horseradish (*Armoracia lapathifolia* Gilib.) [J]. *Planta*, 1976, 130(2):175—180.
- [34] Willekens H, Chamnongpol S, Davey M, *et al.* Catalase is a sink for H_2O_2 and is indispensable for stress defence in C_3 plants[J]. *The EMBO Journal*, 1997, 16(16):4806—4816.
- [35] Liu Y J, Zhao Z G, Si J, *et al.* Brassinosteroids alleviate chilling-induced oxidative damage by enhancing antioxidant defense system in suspension cultured cells of *Chorisporea bungeana* [J]. *Plant Growth Regulation*, 2009, 59(3):207—214.
- [36] Draper H H, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation [J]. *Methods Enzymol*, 1990, 186(186):421—431.
- [37] Centritto M. Photosynthetic limitations and carbon partitioning in cherry in response to water deficit and elevated $[CO_2]$ [J]. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 2005, 106(2—3):233—242.
- [38] Herppich W B, Herppich M, Tüffers A, *et al.* Photosynthetic responses to CO_2 concentration and photon fluence rates in the CAM-cycling plant *Delosperma tradescant-ioides* [J]. *New Phytologist*, 1998, 138(3):433—440.
- [39] 王一, 曹敏建, 李春红, 等. 玉米幼苗叶片光合速率及叶绿素荧光参数对 PEG-6000 处理的响应[J]. 江苏农业科学, 2011, 39(6):164—166.
- [40] Abid G, Mhamdi M, Mingeot D, *et al.* Effect of drought stress on chlorophyll fluorescence, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in faba bean (*Vicia faba*) [J]. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2016, 63(4):536—552.
- [41] 谢燕, 张庆龙, 胡玲, 等. PEG 胁迫对不同小麦品种幼苗抗旱生理指标的影响[J]. 麦类作物学报, 2017, 37(7):947—954.
- [42] 张仁和, 郑友军, 马国胜, 等. 干旱胁迫对玉米苗期叶片光合作用和保护酶的影响[J]. 生态学报, 2011, 31(5):1303—1311.
- [43] Tari I, Camen D, Coradini G, *et al.* Changes in chlorophyll fluorescence parameters and oxidative stress responses of bush bean genotypes for selecting contrasting acclimation strategies under water stress[J]. *Acta Biologica Hungarica*, 2008, 59(3):335—345.
- [44] Vivekanandan M. Drought-induced responses of photo-

synthesis and antioxidant metabolism in higher plants
[J]. Journal of Plant Physiology, 2004, 161(11): 1189—
1202.

[45] Foyer C H, Lelandais M, Kunert K J. Photooxidative
stress in plants [J]. Physiologia Plantarum, 1994, 92
(4): 696—717.

Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters and lipid peroxidation in alfalfa seedlings

ZHANG Cui-mei, SHI Shang-li, CHEN Jian-gang

(College of Grassland Science, Gansu Agricultural University/Key Laboratory for Grassland Ecosystem of Ministry of Education/ Pratacultural Engineering Laboratory of Gansu Province/Sino-U. S. Centers for Grazing Land Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The effects of drought stress on photosynthetic physiology and lipid peroxidation in leaf of different drought-tolerant alfalfa (*Medicago sativa*) varieties, including Longzhong (strong drought-tolerant), Longdong (moderate drought-tolerant) and Gannong No. 3 (drought-sensitive), were studied through sand culture experiment in glasshouse. The changes of relative water content (RWC), chlorophyll content, the levels of reactive oxygen species ($O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 and $OH^{\cdot}$) and malondialdehyde (MDA), and chlorophyll fluorescence parameters were measured under drought stress stimulated by polyethylene glycol (PEG-6000) with the water potential of -1.2 MPa at 0, 3, 6, 9 and 12 days of treatment. The results showed that, with the prolonging of stress time, RWC, chlorophyll a content, chlorophyll a/b ratio, maximum fluorescence (F_m), potential photochemical efficiency (F_v/F_o), maximal chemical efficiency (F_v/F_m), photochemical quenching (qP), photochemical quantum yield of photosystem II (*Yield*) and photosynthetic electron transport rate (*ETR*) in leaf of tested varieties decreased gradually, while the levels of $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , $OH^{\cdot}$ and MDA increased continuously. However, the increase amplitudes of H_2O_2 and MDA and the decrease amplitudes of RWC, chlorophyll a content, F_m , F_v/F_o , F_v/F_m , *Yield* and *ETR* in leaf of Longzhong were lower than those of Longdong and Gannong No. 3. Simple correlation analysis showed that there were significant negative correlation between RWC, *Chl a*, *Chl a/b*, F_m , F_v/F_m , qP , *ETR*, *Yield* and $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , $OH^{\cdot}$, MDA. Principal component analysis indicated that chlorophyll fluorescence characteristic factor (including qN , *Yield*, *Chl a*, qP and *ETR*) was responsive for the drought-tolerance of Longzhong, while the drought-tolerance of Longdong and Gannong No. 3 were mainly affected by membrane lipid peroxidation factor (including $OH^{\cdot}$, H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ and MDA). Overall, the variations in chlorophyll fluorescence parameters of Longzhong were less affected by drought stress than those in Longdong and Gannong No. 3. The stronger water retention capacity and lower degrees of photosynthetic apparatus damage and lipid peroxidation might contribute to the greater drought-tolerance of Longzhong.

Key words: alfalfa; drought stress; chlorophyll fluorescence parameters; lipid peroxidation; reactive oxygen species (ROS)