

苜蓿品种抗寒性与秋眠级的相关性研究

童长春, 刘晓静, 运向凯, 吴勇

(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发展研究中心, 甘肃 兰州 730070)

摘要:以 16 个低秋眠级的苜蓿品种为材料, 采用盆栽土培法, 通过低温胁迫研究各品种的抗寒性, 并采用主成分分析法和隶属函数法对苜蓿抗寒性做出综合评价, 应用线性回归法对苜蓿抗寒性与秋眠级指数进行回归分析, 探明苜蓿抗寒性与秋眠级的相关性。结果表明: 16 个不同来源的苜蓿品种, 龙牧 801 与龙牧 806 相比其他苜蓿品种抗寒性最佳, 甘农 2 号的抗寒性次之, 而巨能 551 的抗寒性最差; 苜蓿抗寒性与其秋眠级指数显著负相关 ($R^2=0.92$), 秋眠级指数越低, 苜蓿的抗寒能力越强, 因此在引种与生产中利用秋眠特性对苜蓿抗寒性进行预判具有一定的实际意义。

关键词: 苜蓿; 抗寒性; 秋眠级; 相关性

中图分类号: S541 **文献标志码:** A **文章编号:** 1009-5500(2020)06-0084-06

DOI: 10.13817/j.cnki.cyycp.2020.06.013

苜蓿属 (*Medicago*) 不仅作为高品质牧草在世界范围内被广泛栽培^[1], 并且还能防风固沙、保持水土和肥田沃土。随着我国种植业结构的调整以及西部地区各种生态建设工程的持续推进, 苜蓿的栽培面积将逐年增加^[2], 但在我国北方高纬度、高海拔地区, 由于气候寒冷, 优质豆科牧草资源匮乏。低温已经成为限制我国寒冷地区优质牧草生产和可持续发展的重要环境因素^[3], 因此, 筛选具有一定抗寒性的苜蓿品种对我国北方草业的发展具有十分深远的意义。

抗寒性是描述苜蓿越冬性能的一个重要指标, 不同苜蓿品种的抗寒性具有显著差异^[4], 抗寒性强的苜蓿品种能够在冬季存活且在第三年恢复生长。苜蓿的秋眠性是对短日照变化的一种生长反应, 在高纬度地

区随着秋季日照长度的降低, 苜蓿植株会表现出俯卧生长且生长速率下降的生长特性^[5], 秋眠级即表示这一特性的强弱, 苜蓿的秋眠级越低其秋眠性越强^[6], 有学者认为苜蓿的抗寒性与其秋眠性相关, 可以通过苜蓿的秋眠级来预判其抗寒性^[7], 但也有研究表明, 秋眠级越低并不代表苜蓿在冬季的适应性越好^[8], 根据这一现象, 美国育种家致力于非秋眠而又抗寒、高产的苜蓿品种培育, 使得新品种的抗寒性超过其秋眠级所预测的水平^[5]。近年来随着我国苜蓿种植范围不断扩大, 新品种引进也得到迅速发展, 在选择抗寒品种时, 业界普遍以苜蓿的秋眠性代表其抗寒性^[9], 但此举仍缺乏充实的理论依据。为此, 本文通过低温胁迫试验对 16 个低秋眠级的苜蓿品种的抗寒机理进行比较分析, 旨在筛选能够在寒冷地区种植的高抗寒性苜蓿品种, 并从植物生理方面探明苜蓿抗寒性与秋眠级的相关性, 为寒冷地区苜蓿引种及抗寒性鉴定提供参考。

1 材料和方法

1.1 试验材料

根据苜蓿抗寒性的已有研究成果以及各品种在实际种植应用中的广泛性, 本研究选取 16 个苜蓿品种作为供试材料(表 1)。

收稿日期: 2019-12-24; **修回日期:** 2020-03-11

基金项目: 甘肃省重大科技专项: 草类植物种质创新与品种选育(课题 3)(19ZD2NA002-3); 甘肃农业大学科技创新基金(GSAU-XKJS-2018-008); 甘肃省草原技术推广总站项目(XMXZGSNDXY 201802)

作者简介: 童长春(1994-), 男, 甘肃平凉人, 硕士研究生。

E-mail: 2411089253@qq.com

刘晓静为通讯作者。

E-mail: liuxj@gsau.edu.cn

1.2 试验设计

试验于2017年4月10日开始在甘肃农业大学防雨网室内进行,选取长20 cm,宽15 cm,高度为12 cm的花盆,装入过筛土壤,对16个品种的苜蓿种子进行播种,播种方式采用穴播,每盆12穴,每穴4~5粒种子,每个苜蓿品种播种3盆,待苗长齐后分次进行间

苗,每盆保留健壮苗12株。于播种后60 d进行低温胁迫处理^[10],将各品种的苜蓿放入人工气候室(温度误差 $\pm 1^{\circ}\text{C}$)进行逐级降温处理(降温速率不超过 $2.5^{\circ}\text{C}/\text{h}$),使植株对温度变化有一定的适应过程,待温度降到 0°C 时,保持24 h低温处理后将植株取出进行指标的测定^[11]。

表1 供试苜蓿品种及秋眠级指数

Table 1 The tested alfalfa varieties and fall dormancy index

品种	主要来源	来源	分布区域	秋眠级指数
3010 <i>M. sativa</i> cv. 3010	北京克劳沃草业技术开发中心	美国	北方地区	2.5
龙牧 806 <i>M. sativa</i> cv. Longmu 806	新疆农业大学草业与环境科学学院	国内	北方地区	0.7
龙牧 801 <i>M. sativa</i> cv. Longmu 801	黑龙江省畜牧研究所	国内	北方地区	0.3
甘农 1号 <i>M. sativa</i> cv. Gannong No. 1	甘肃农业大学草业学院	国内	北方地区	2
甘农 3号 <i>M. sativa</i> cv. Gannong No. 3	甘肃农业大学草业学院	国内	北方地区	3
甘农 7号 <i>M. sativa</i> cv. Gannong No. 7	甘肃农业大学草业学院	国内	北方地区	1
WL298 <i>M. sativa</i> cv. WL298	北京正道生态科技有限公司	美国	北方地区	1
WL343 <i>M. sativa</i> cv. WL343	北京正道生态科技有限公司	美国	北方地区	3.9
WL168 <i>M. sativa</i> cv. WL168	北京正道生态科技有限公司	美国	北方地区	1.6
巨能 551 <i>M. sativa</i> cv. Giant 551	北京克劳沃草业技术开发中心	美国	温带地区	5
巨能 2号 <i>M. sativa</i> cv. Giant No. 2	北京克劳沃草业技术开发中心	加拿大	北方寒冷地区	3
新牧 1号 <i>M. rivularis</i> cv. Xinmu No. 1	新疆农业大学草业与环境科学学院	国内	北方地区	0.7
新牧 2号 <i>M. rivularis</i> cv. Xinmu No. 2	新疆农业大学草业与环境科学学院	国内	北方地区	1.7
陇东苜蓿 <i>M. sativa</i> cv. Longdong	甘肃农业大学草业学院	国内	北方地区	1
驯鹿 <i>M. rivularis</i> cv. Caribou	北京克劳沃草业技术开发中心	美国	北方大部分地区	2.8
甘农 2号 <i>M. sativa</i> cv. Gannong No. 2	甘肃农业大学草业学院	国内	北方地区	1

1.3 测定指标及方法

1.3.1 相对电导率的测定 采用电导率仪(DDS-307A)测定相对电导率。

1.3.2 可溶性糖含量的测定 采用葱酮比色法测定可溶性糖含量^[12]。

1.3.3 可溶性蛋白含量的测定 采用考马斯亮蓝 G-250 染色法测定可溶性蛋白含量^[13]。

1.3.4 丙二醛含量含量的测定 采用硫代巴比妥酸法测定丙二醛含量^[13]。

1.4 数据处理

采用 Excel 2010 软件进行数据整理,应用 SPSS

19.0 软件对数据进行统计分析。抗寒性的综合评价采用韩瑞宏等^[14]隶属函数的计算公式:

隶属函数值计算公式:

$$R(X_{ij}) = (X_{ij} - X_{j\min}) / (X_{j\max} - X_{j\min}) \quad (1)$$

反隶属函数值计算公式:

$$R(X_{ij}) = 1 - (X_{ij} - X_{j\min}) / (X_{j\max} - X_{j\min}) \quad (2)$$

式中: $R(X_{ij})$ 为*i*品种的*j*性状的隶属函数值, X_{ij} 为*i*品种的*j*性状值, $X_{j\min}$ 为各品种*j*性状的最小值, $X_{j\max}$ 为各品种*j*性状的最大值。当*j*性状与植物的抗寒性成正相关时用(1)式;当*j*性状与植物抗寒性成负相关时用(2)式。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫对 16 个苜蓿品种苗期生理指标的影响

苜蓿在低温胁迫下的相对电导率、可溶性糖、可溶性蛋白以及丙二醛含量在品种间表现出差异,其中相对电导率差异最明显,不同品种之间相对电导率的变化幅度最高达到了 54.7 个百分点,其次是可溶性蛋白

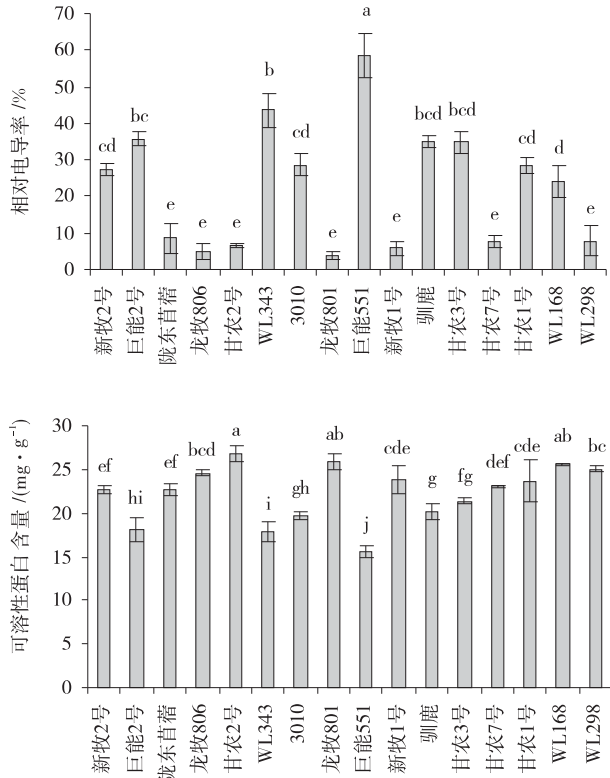


图 1 低温胁迫下 16 个苜蓿品种苗期的生理指标

Fig. 1 Effects of low temperature stress on physiological indexes of 16 alfalfa varieties at seedling stage

注:图中不同字母表示差异达 5% 水平

2.2 16 个苜蓿品种苗期抗寒性的综合评价

对苜蓿抗寒性的 4 个指标进行主成分分析结果显示:相对电导率、可溶性糖、可溶性蛋白以及丙二醛对苜蓿苗期抗寒性的总方差解释率为 76.56%,且特征值为 3.06,表明其已基本反映苜蓿苗期抗寒性的所有信息。为明确各指标具体对苜蓿苗期抗寒性的贡献程度,实现量化其贡献率,本研究通过对主成分分析得到的成分得分系数进行各指标赋权,并对权重进行归一化处理,从而得到各指标对苜蓿苗期抗寒性的具体贡献率(表 2)。

为避免单一指标评价苜蓿苗期抗寒性的片面性,隶属函数法可以在多指标测定的基础上对苜蓿抗寒性进行综合评价。本研究将主成分分析得到的各指标贡献率与隶属函数值进行结合得到的综合指数能更准确

含量,不同苜蓿品种之间的变化幅度最高达到了 39.5 个百分点。整体来看,相对电导率和丙二醛含量较低的苜蓿具有较高的可溶性糖和可溶性蛋白含量,其中,龙牧 801、龙牧 806 以及甘农 2 号相比其他苜蓿具有较高的可溶性糖、可溶性蛋白含量和较低相对电导率、丙二醛含量,而巨能 551 则具有最低可溶性糖、可溶性蛋白含量和最高的相对电导率、丙二醛含量(图 1)。

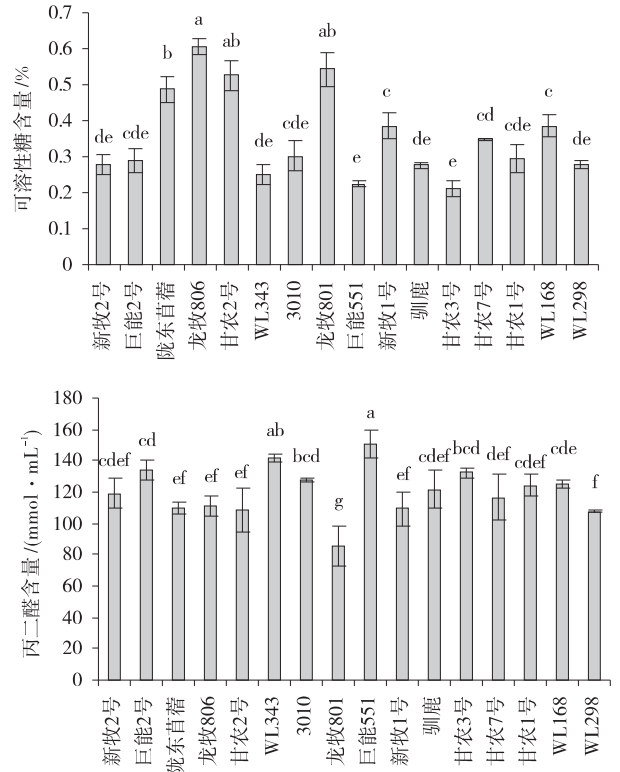


表 2 苜蓿抗寒生理指标主成分分析

Table 2 Principal component analysis of alfalfa's cold resistance physiological index

特征值	解释的总方差/%	指标	成份得分系数	贡献率/%
3.06	76.56	相对电导率	0.304	26.62
		可溶性糖	-0.265	23.19
		可溶性蛋白	-0.291	25.46
		丙二醛	0.282	24.72

地反映各苜蓿品种的抗寒性(表 3)。

隶属函数综合评价结果显示:龙牧 801 的抗寒性最强,相对抗寒综合指数达到了 0.94,其次是龙牧 806 和甘农 2 号,巨能 551 的抗寒性最差,相对抗寒综合指数仅有 0.01。

2.3 苜蓿苗期抗寒性与秋眠级的相关性

利用线性回归法,对各苜蓿品种苗期抗寒性的隶属函数综合值与秋眠级指数进行回归分析,建立抗寒性与秋眠级的一元回归方程(图 2),苜蓿苗期抗寒性与其秋眠级指数呈现显著负相关($R^2 = 0.92$),秋眠级指数越高,苜蓿的抗寒能力则越弱。

表 3 各苜蓿品种抗寒性的隶属函数综合评价

Table 3 Comprehensive evaluation of membership function on cold resistance of various alfalfa varieties

品种	R(1)	R(2)	R(3)	R(4)	S(R)
新牧 2 号	0.57	0.16	0.63	0.48	0.47
巨能 2 号	0.42	0.19	0.22	0.26	0.2
陇东苜蓿	0.91	0.7	0.62	0.63	0.72
龙牧 806	0.98	1	0.8	0.61	0.85
甘农 2 号	0.95	0.79	1	0.65	0.85
WL343	0.28	0.1	0.2	0.13	0.18
3010	0.55	0.23	0.36	0.34	0.38
龙牧 801	1	0.83	0.91	1	0.94
巨能 551	0	0.03	0	0	0.01
新牧 1 号	0.96	0.44	0.73	0.62	0.7
驯鹿	0.43	0.16	0.4	0.44	0.36
甘农 3 号	0.44	0	0.51	0.28	0.31
甘农 7 号	0.93	0.34	0.66	0.52	0.63
甘农 1 号	0.55	0.21	0.72	0.4	0.48
WL168	0.63	0.44	0.89	0.39	0.59
WL298	0.93	0.17	0.84	0.66	0.66

注:表中 R(1)、R(2)、R(3)、R(4)分别表示相对电导率、可溶性糖、可溶性蛋白、丙二醛的隶属函数值;S(R)代表抗寒性的隶属函数综合指数($S(R) = R(1) \times 26.62\% + R(2) \times 23.19\% + R(3) \times 25.46\% + R(4) \times 24.72\%$)

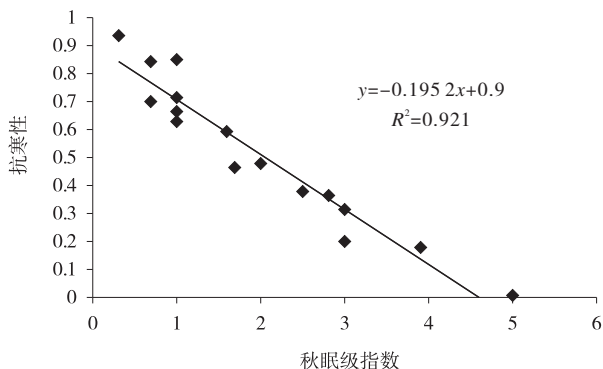


图 2 苜蓿苗期抗寒性与秋眠级的相关性

Fig. 2 Correlation between cold resistance and fall dormancy in alfalfa seedlings

3 讨论

苜蓿的抗寒性是一个复杂的遗传特性,其抗寒能力也因品种而异,不同苜蓿品种在寒冷胁迫时代谢方面的差异直接或间接地影响着其抗寒性^[15]。植物细胞内可溶性糖可以作为渗透调节物质和防脱水剂,可溶性蛋白亲水胶体性质强,能明显增强植物细胞的持水能力,低温胁迫下,较高的可溶性糖和可溶性蛋白含量均能降低因植物细胞结冰而使植物伤害致死的可能性^[16-17],另外,丙二醛(MDA)是质膜发生过氧化的产物,MDA的积累增加会增大膜透性,造成电导率变大,从而严重损伤细胞膜系统,可用相对电导率和MDA含量的大小来反映植物受寒害的程度。已有研究表明,苜蓿秋季至翌年春天,可溶性糖含量随着气温的变化表现出先不断上升,后又降低的现象^[18-19],本研究 16 个不同来源的苜蓿品种中,龙牧 801 与龙牧 806 相比其他苜蓿品种具有较高的可溶性糖、可溶性蛋白含量和较低的相对电导率、丙二醛含量,其次是甘农 2 号,而巨能 551 则表现相反。可见,龙牧 801 与龙牧 806 相比其他苜蓿品种具有较强的抗寒性,甘农 2 号的抗寒性次之,而巨能 551 的抗寒性最差。龙牧系列苜蓿品种来源于黑龙江和新疆等北方寒冷地区,而巨能 551 来源于温带地区,可见苜蓿抗寒性的区域特性明显,对引种的影响极为重要。

苜蓿秋眠性与生长速度和抗寒性的关系密切,已有研究表明,苜蓿秋眠级高的品种在秋季能有更高的产量,而秋眠级越低产量也越低^[20-21],刘志英等^[22]对越冬期紫花苜蓿的研究发现,秋眠品种受日照变短的影响较大,生长速度低但抗寒性强;非秋眠品种受低温的影响较大,生长速度高但抗寒性弱,半秋眠品种受日照变短和低温的影响介于二者之间,既可维持较高的生长速度又具有一定的抗寒性。本研究中,通过对 16 个具有一定秋眠特性的苜蓿苗期抗寒性与秋眠级指数的相关性分析发现,苜蓿苗期抗寒性与其秋眠级指数呈现显著负相关($R^2 = 0.92$),秋眠级指数越低,苜蓿的抗寒能力越强,反之,秋眠级指数越高,苜蓿的抗寒能力则越弱。朱爱民等^[23]通过不同苜蓿品种形态特征对低温的响应研究发现,抗寒性强的苜蓿品种会随着季节性降温地上生长缓慢甚至停止,而地下会表现出根颈增粗,根重增加,根长增长,根冠比增大的现象。可见,抗寒性强的苜蓿品种之所以在寒冷地区具有较

高的越冬率,是由于其秋眠性较强,能够在秋季为根系贮存营养,以备越冬,而秋眠性差的苜蓿品种不抗寒,是因为旺盛生长耗尽营养,贮存在根系的养分很少,因此难以越冬或越冬率低。由此可见,在引种与生产中利用秋眠特性对苜蓿抗寒性进行预判具有一定的实际意义。

4 结论

(1)16个苜蓿品种,龙牧801与龙牧806相比其他苜蓿品种具有较强的抗寒性,甘农2号的抗寒性次之,而巨能551的抗寒性最差。

(2)苜蓿抗寒性与其秋眠级指数具有显著负相关($R^2=0.92$),秋眠级指数越低,苜蓿的抗寒能力越强。

(3)在引种与生产中利用秋眠特性对苜蓿抗寒性进行预判具有一定的实际意义。

参考文献:

[1] 朱天琦,刘晓静,郝凤. 2个紫花苜蓿品种叶片对氮的光合响应[J]. 草原与草坪,2017,37(6):31-35+41.

[2] 胡伟,张亚红,李鹏,等. 水氮供应对地下滴灌紫花苜蓿生产性能及水氮利用效率的影响[J]. 草业学报,2019,28(2):41-50.

[3] 王运涛,于林清,萨仁. 苜蓿抗寒性研究进展[J]. 草原与草坪,2012,32(3):91-96.

[4] 郝培彤,宁亚明,高秋,等. 科尔沁沙地不同苜蓿品种越冬期根颈耐寒生理机制的研究[J]. 草业学报,2019,28(9):87-95.

[5] 李向林,万里强. 苜蓿秋眠性及其与抗寒性和产量的关系[J]. 草业学报,2004,13(3):57-61.

[6] 刘志英,李西良,李峰,等. 紫花苜蓿秋眠性对低温驯化过程与越冬耐寒适应的作用机理[J]. 植物生态学报,2015,39(6):635-648.

[7] 何云,刘圈炜,王成章,等. 苜蓿秋眠性研究进展[J]. 草业科学,2005(11):29-34.

[8] 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.

[9] 徐敏云,李运起,谢帆,等. 影响紫花苜蓿高产栽培诸因素研究进展[J]. 草原与草坪,2005(4):15-19.

[10] 陶先萍,苜蓿高产栽培技术[J]. 现代农业研究,2018(6):43-44.

[11] 董文科,马祥,张玉娟,等. 低温胁迫对不同早熟禾品种糖酵解代谢及其相关基因表达的影响[J]. 草地学报,2019,27(6):1503-1510.

[12] 李合生. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2004.

[13] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,2006.

[14] 韩瑞宏,卢欣石,高桂娟,等. 紫花苜蓿抗旱性主成分及隶属函数分析[J]. 草地学报,2006,14(2):142-146.

[15] 孙予璐,李建东,孙备,等. 不同品种紫花苜蓿主要抗寒生理指标对低温的响应[J]. 沈阳农业大学学报,2017,48(5):591-596.

[16] 乔洁,刘元和,姚永华,等. 4种豆科牧草抗寒性能比较研究[J]. 草原与草坪,2010,30(1):68-73.

[17] Samis K, Bowley S, Mckersie B. Pyramiding Mn-superoxide dismutase transgenes to improve persistence and biomass production in alfalfa [J]. Exp Bot, 2002, 53(372):1343-1350.

[18] Dhont C, Castonguay Y, Nadeau P, et al. Alfalfa Root Carbohydrates and Regrowth Potential in Response to Fall Harvests[J]. Crop Science,2002,42(3):401-405.

[19] 申晓慧. 紫花苜蓿抗寒性研究进展及展望[J]. 安徽农业科学,2013,41(35):13530+13625.

[20] 曹婧,李富祥,毕舒贻,等. 不同秋眠级紫花苜蓿在贵州地区的引种试验[J]. 草原与草坪,2018,38(4):78-87.

[21] 杨秀芳,梁庆伟,娜日苏,等. 年刈割次数对科尔沁沙地不同秋眠级紫花苜蓿品种产量、品质和越冬率的影响[J]. 草地学报,2019,27(3):637-643.

[22] 刘志英,李西良,李峰,等. 越冬紫花苜蓿根系性状与秋眠性的关系及其抗寒效应[J]. 中国农业科学,2015,48(9):1689-1701.

[23] 朱爱民,张玉霞,王显国,等. 沙地生境不同苜蓿品种形态特征对低温的响应及其与抗寒性关系[J]. 草地学报,2018,26(6):1400-1408.

entific using in matrine. The sublethal dose of matrine, LC_{10} (0.021 mg/L) and LC_{30} (0.385 mg/L), were used to treat the female adults of *T. urticae* by the method of slide dipping, and the enzyme activities of glutathione S-transferases (GSTs), carboxylesterases (CarE), and multifunctional oxidases (MFO) were measured and analyzed after treatment for 3, 6, 12, 24, and 48 h. The results showed that after treatment with LC_{10} and LC_{30} , the activities of CarE, GSTs, and MFO in female adult mites of *T. urticae* increased in varying degrees compared with the control. The activities of CarE and MFO (except 3 h) in LC_{30} treatment were higher than that in LC_{10} treatment, and the activity was the largest within 12~24 h; the GSTs activity in LC_{10} treatment was significantly ($P < 0.05$) higher than that in LC_{30} treatment at 3 h, 6 h, and 12 h, and reached the maximum at 24 h. It showed that the spider mite had the strongest detoxification metabolism to Matrine within 12~24 h. With the increase of matrine concentration, the activities of CarE and MFO increased, while the activity of GSTs did not change significantly.

Key words: *Tetranychus urticae*; matrine; sublethal dose; detoxifying enzymes

(上接 88 页)

Correlation between the cold resistance of alfalfa varieties and their fall dormancy

TONG Chang-chun, LIU Xiao-jing, YUN Xiang-kai, WU Yong

(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 lack of high-quality leguminous pasture resources has become a factor that limiting the production and sustainable development of high-quality pastures in the cold regions of northern China. In this study, 16 low fall-dormancy alfalfa cultivars were used as materials to study their cold resistance by pot of soil culture. At the same time, principal component analysis and membership function method were used to evaluate the cold resistance, and regression analysis of alfalfa cold resistance and fall dormancy grade was conducted by linear regression method. The purpose of this study was to selected high cold resistant alfalfa cultivars that can be planted in cold areas, and explore the correlation between cold resistance and fall-dormancy grade. The results showed that Longmu 801 and Longmu 806 had the best cold resistance compared to other alfalfa cultivars among the 16 alfalfa cultivars. The cold resistance of Gannong NO. 2 was followed Longmu 801 and Longmu 806, and the cold resistance of Juneng 551 was the worst. There was a significant negative correlation between cold resistance and fall dormancy index of alfalfa ($R^2 = 0.92$), the fall-dormancy was lower, the cold resistance was stronger of alfalfa. Therefore, It has the practical value to predict the cold resistance of alfalfa by using fall-dormancy characteristics in the introduction and production.

Key words: alfalfa; cold resistance; fall-dormancy grade; correlation