

应用隶属函数法评价 10 个紫花苜蓿品种的耐热性

杨雨薇¹, 王琳², 卢俊峰¹, 任翔¹, 徐鑫¹, 刘大林¹

(1. 扬州大学动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009; 2. 扬州大学农业科技
发展研究院(国际联合实验室), 江苏 扬州 225009)

摘要:以 10 个紫花苜蓿(*Medicago sativa*)品种作为试验材料,采用盆栽法探究 38℃/35℃(昼/夜)高温胁迫对其生长和生理特性的影响,并用隶属函数法综合评价其耐热性,筛选耐热性较强及热敏感性紫花苜蓿品种。结果表明:在高温胁迫处理下,紫花苜蓿的各项生长指标和叶绿素含量均低于对照;丙二醛(MDA)含量均大于对照;可溶性糖含量升高。WL-319HQ, WL-656HQ 和 WL-354 3 个紫花苜蓿品种耐热性较高, WL-712, 三德利和维多利亚 3 个紫花苜蓿品种对高温较为敏感。

关键词:高温胁迫;紫花苜蓿;耐热性;生长生理

中图分类号:S541.9 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2021)04-0081-08

DOI: 10.13817/j.cnki.cyycp.2021.04.011



随着全球气候变暖的不断加剧,植物正面临着高温胁迫的危害。高温胁迫对植物生长造成的直接伤害表现为植物光合速率降低后叶片出现萎蔫、失绿的现象,与此同时,植物呼吸速率下降,体内的部分有害物质无法被清除或降解。部分植物的根部在高温逆境下会出现褐变,根系生物量的积累受到抑制从而加速植物的死亡。植物细胞膜是抵抗高热胁迫的重要组织,高温胁迫下植物体内的活性氧分子发生氧化反应形成丙二醛,并在植物体内积累对细胞质膜造成损伤。此外,植物在受到高温胁迫后蛋白质合成受阻,酶活性下降,造成植物体内代谢失调。

紫花苜蓿(*Medicago sativa*)作为一种常见的多年生豆科牧草,在我国北方地区草地面积较大的区域种植。除此之外,在南方紫花苜蓿的种植已经有了一定的规模并且发展前景良好,但其适宜生长的日平均气温为 15~21℃,对高温极其敏感^[1]。我国长江中下游地区常年高温,夏季最高温度可达 40℃,对农作物的生产造成诸多不利的影 响。紫花苜蓿在南方地区种

植还会面临高温多湿带来的病虫害问题。因此高温胁迫是限制南方地区紫花苜蓿生长的一个重要因素。张鹤山等^[2]测量了 19 个紫花苜蓿品种的耐热性,发现 WL 系列品种的耐热性较强,刘大林等^[3]对高温胁迫下紫花苜蓿的部分生理生化指标做了分析,李德峰^[4]分析了夏季苜蓿减产的原因,任翔等^[5]通过施加硅酸钾缓解了紫花苜蓿对高温环境的不良应答反应。虽然国内众多学者对紫花苜蓿的耐高温能力进行了生长和生理方面指标测定,但是使用不同指标对紫花苜蓿耐热性进行隶属函数综合分析较少。本研究以 10 个紫花苜蓿品种作为试验材料,通过人工气候培养箱模拟高温环境,探究高温胁迫对紫花苜蓿幼苗生长和生理的影响,并对 10 个紫花苜蓿品种的耐高温能力进行综合评价,以期为我国多高温天气的地区或夏季持续高温地区紫花苜蓿的种植提供一定的理论参考。

1 材料和方法

1.1 试验材料

选取扬州大学动物科学与技术学院草业科学实验室中的 10 个紫花苜蓿品种作为试验材料,其特性及编号见表 1。

1.2 试验设计

采用盆栽法进行栽培试验,花盆直径为 30 cm,高 35 cm,每盆装过筛(孔径 0.5 mm)风干土 900 g。选取籽粒饱满、大小一致的 10 个紫花苜蓿品种种子,于

收稿日期:2020-09-27; 修回日期:2021-10-12

基金项目:江苏现代农业(奶牛产业)技术体系建设专项
[JATS(2019)460]

作者简介:杨雨薇(1998-),女,江苏南京人,硕士研究生。

E-mail:44yyw@163.com

刘大林为通讯作者。E-mail:liudl@yzu.edu.cn

5%次氯酸钠溶液中浸种消毒 15 min。每个品种 10 盆,每盆播种 40 粒,播深 2 cm。播种 21 d 后,分别挑选每个品种长势相对一致的 6 盆植株作为处理材料,其中 3 盆室温下放置为对照组,其余 3 盆放入人工气

候培养箱中,在 38℃光照处理 14 h,35℃黑暗处理 10 h 的模式下进行高温胁迫处理。每个处理均 3 次重复。高温胁迫处理 14 d 后对所有材料进行采样,分别测其各项生长和生理指标。

表 1 紫花苜蓿材料特征及编号

Table 1 Characteristics and numbering of Alfalfa materials

编号	中文品种名	英文品种名	品种来源	秋眠等级
MS1	三德利	Sanditi	澳大利亚	5.0~6.0
MS2	维多利亚	Victoria	美国	5.0
MS3	WL-319HQ	WL-319HQ	美国	4.0
MS4	WL-363	WL-363	美国	4.9
MS5	WL-168	WL-168	美国	5.0
MS6	WL-354	WL-354	美国	5~6
MS7	阿尔冈金	Algonquin	美国	3.0
MS8	WL-656HQ	WL-656HQ	美国	9.3
MS9	WL-903	WL-903	美国	9.5
MS10	WL-712	WL-712	美国	10.2

注:表中 MS 是紫花苜蓿缩写,1-10 的数字编号是对 10 个品种紫花苜蓿材料进行排序。

1.3 测量指标与方法

1.3.1 生长指标的测定 将经过 14 d 处理后的紫花苜蓿植株放入蒸馏水中,将根部清洗干净,用吸水纸吸干水分,每盆随机取 10 株紫花苜蓿,用剪刀迅速将紫花苜蓿的根、茎、叶分开,用直尺(精度 0.1 cm)分别测其地上和地下部分绝对长度,并取平均值;称量其各部位鲜重,在 105℃杀青烘干之后,分别测量根、茎、叶的干重。

1.3.2 叶绿素含量的测定 参考施海涛^[6]叶绿素测定方法测定叶绿素含量,稍有改动。在高温胁迫处理下生长 14 d 后,称取紫花苜蓿的新鲜叶片 0.1 g,记为 m,将称取的新鲜叶片放入 10 mL 的离心管中,随后在离心管中加入 5 mL 95%的乙醇,用锡箔纸包严后黑暗条件下浸提 48 h,然后以 95%的乙醇作为空白对照,用分光光度计测波长 665 和 649 nm 下的吸光度。然后根据下列方程式计算叶绿素 a 含量、叶绿 b 含量和叶绿素总含量。

$$\text{Chl}_a (\text{mg/g FW}) = (13.95 \times D_{665 \text{ nm}} - 6.88 \times D_{649 \text{ nm}}) \times 0.005/\text{m}$$

$$\text{Chl}_b (\text{mg/g FW}) = (24.96 \times D_{649 \text{ nm}} - 7.32 \times D_{665 \text{ nm}}) \times 0.005/\text{m}$$

$$\text{Chl} (\text{mg/g FW}) = \text{Chl}_a + \text{Chl}_b = (18.08 \times D_{649 \text{ nm}} + 6.63 \times D_{665 \text{ nm}}) \times 0.005/\text{m}$$

式中:Chl_a 为叶绿素 a 的含量,Chl_b 为叶绿素 b 的含量,Chl 为叶绿素的总含量。

1.3.3 丙二醛(MDA)含量 MDA 含量采用硫代巴比妥酸法测量^[6]。

1.3.4 可溶性糖含量的测定 可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定^[6]。

1.4 抑制率分析

本研究在综合评价时根据对照处理和高温处理下 10 个紫花苜蓿品种各单项指标均值,计算高温胁迫下 10 个紫花苜蓿品种的各单项指标的抑制率。计算公式为:

$$a\% = (1 - W/CK) \times 100\%$$

式中:a% 表示单项指标的抑制率,CK 表示对照处理下该单项指标的均值,W 表示高温处理下该单项指标的均值。

1.5 耐高温性综合评价

用隶属函数评价方法^[7-8],对各紫花苜蓿品种的耐热性进行综合评价。计算公式如下:

$$F_1(X_i) = (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$$

$$F_2(X_i) = 1 - (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$$

式中:X 表示第 i 个指标值,X_{min} 表示第 i 个指标的最小值,X_{max} 表示第 i 个指标的最大值。若该指标

与紫花苜蓿的耐高温能力呈相反关系,则采用用反隶属函数公式 F_2 计算其隶属函数值。

1.6 数据处理

采用 Excel 2010 和 SPSS 19.0 软件对数据进行单因素方差分析。在 0.05 置信水平上用 Duncan 法进行多重比较,用 Excel 2010 作图,SPSS 19.0 进行 Pearson 相关性分析。

2 结果与分析

2.1 高温胁迫对不同紫花苜蓿品种幼苗生长的影响

高温胁迫处理 14 d 后,10 个紫花苜蓿品种的株高、根长、总生物量、根干重、茎干重和叶干重均低于对照处理(表 2),表明紫花苜蓿对于高温较为敏感并且紫花苜蓿的生长在高温条件下受到了胁迫。高温胁迫下,其叶片鲜重显著低于对照($P < 0.05$),表明高温胁迫对紫花苜蓿叶片生长有抑制作用。MS10 品种的茎鲜重在处理组与对照组也有显著性差异($P < 0.05$),

表明高温胁迫对植物茎的生长也有影响。

2.2 高温胁迫对不同紫花苜蓿品种幼苗叶绿素含量的影响

高温胁迫处理 14 d 后,10 个紫花苜蓿品种叶片中的叶绿素 a 含量均低于对照组,除 MS3、MS8 和 MS9 3 个品种在高温胁迫下与对照组无显著差异($P > 0.05$),其余 7 个紫花苜蓿品种在高温胁迫下的叶绿素含量与对照组的叶绿素含量均有显著性差异($P < 0.05$)(图 1)。此外,高温胁迫下紫花苜蓿的叶绿素 b 含量也均显著低于对照组($P < 0.05$),MS1—MS10 分别下降 58.90%、42.30%、25.50%、11.90%、35.80%、30.50%、82.60%、28.10%、6.10% 和 5.80%。与对照组相比,MS1—MS10 高温胁迫下叶绿素总含量分别下降 24.40%、32.60%、10.00%、15.80%、17.80%、10.40%、24.90%、8.70%、3.50% 和 5.00%。除了 MS9 和 MS10 与对照组无显著差异,其他品种的叶绿素总量均显著低于对照($P < 0.05$)。

表 2 高温胁迫下紫花苜蓿的生长特性

Table 2 Effects of high temperature stress on growth characteristics of Alfalfa

品种	株高/cm		根长/cm		根干重/g		茎干重/g		叶干重/g		根鲜重/g		茎鲜重/g		叶鲜重/g	
	N	H	N	H	N	H	N	H	N	H	N	H	N	H	N	H
MS1	6.48±0.09 ^a	5.72±1.03 ^a	13.88±0.42 ^a	10.56±0.31 ^a	0.26±0.04 ^a	0.11±0.01 ^b	0.11±0.02 ^a	0.05±0.01 ^b	0.46±0.06 ^a	0.14±0.02 ^b	1.65±0.28 ^a	0.20±0.01 ^b	0.57±0.10 ^a	0.27±0.06 ^b	2.80±0.32 ^a	0.72±0.04 ^b
MS2	6.45±1.35 ^a	4.53±0.31 ^b	13.61±0.16 ^a	10.04±0.46 ^a	0.39±0.04 ^a	0.12±0.01 ^b	0.11±0.01 ^a	0.06±0.01 ^b	0.42±0.02 ^a	0.16±0.01 ^a	2.07±0.29 ^a	0.28±0.01 ^b	0.57±0.01 ^a	0.29±0.03 ^b	2.84±0.03 ^a	0.88±0.02 ^b
MS3	7.12±0.21 ^a	5.20±0.41 ^a	12.44±0.49 ^a	11.11±1.26 ^a	0.18±0.01 ^a	0.11±0.08 ^a	0.08±0.01 ^a	0.06±0.01 ^a	0.40±0.04 ^a	0.15±0.01 ^b	0.62±0.16 ^a	0.37±0.08 ^a	0.46±0.04 ^a	0.28±0.03 ^a	1.93±0.14 ^a	0.82±0.06 ^b
MS4	8.23±0.52 ^a	5.80±0.59 ^b	13.33±0.31 ^a	9.35±0.62 ^b	0.29±0.05 ^a	0.07±0.09 ^b	0.17±0.01 ^a	0.05±0.00 ^b	0.44±0.02 ^a	0.13±0.01 ^b	1.53±0.05 ^a	0.40±0.09 ^b	0.88±0.04 ^a	0.32±0.02 ^b	2.61±0.10 ^a	0.83±0.10 ^b
MS5	6.51±0.63 ^a	3.60±0.22 ^b	12.35±0.61 ^a	10.86±0.26 ^b	0.28±0.06 ^a	0.10±0.09 ^b	0.23±0.12 ^a	0.04±0.01 ^b	0.48±0.01 ^a	0.18±0.03 ^b	1.30±0.36 ^a	0.47±0.09 ^a	0.63±0.06 ^a	0.20±0.04 ^a	3.04±0.08 ^a	1.10±0.12 ^a
MS6	6.48±0.93 ^a	3.56±0.62 ^b	12.62±0.55 ^a	10.15±0.77 ^b	0.25±0.03 ^a	0.10±0.07 ^a	0.09±0.01 ^a	0.02±0.00 ^a	0.39±0.03 ^a	0.21±0.02 ^a	1.50±0.28 ^a	0.36±0.07 ^a	0.53±0.07 ^a	0.14±0.03 ^b	2.52±0.19 ^a	1.18±0.09 ^a
MS7	5.46±0.33 ^a	4.36±0.62 ^a	13.46±0.47 ^a	10.11±3.65 ^b	0.41±0.12 ^a	0.09±0.34 ^b	0.13±0.01 ^a	0.07±0.02 ^a	0.52±0.40 ^a	0.19±0.01 ^b	2.29±0.24 ^a	0.67±0.34 ^b	0.69±0.06 ^a	0.28±0.05 ^b	3.35±0.26 ^a	1.13±0.13 ^b
MS8	8.92±0.52 ^a	5.41±0.75 ^b	12.99±0.36 ^a	11.88±0.46 ^a	0.33±0.05 ^a	0.10±0.12 ^b	0.19±0.01 ^a	0.05±0.01 ^b	0.45±0.50 ^a	0.20±0.02 ^a	1.49±0.27 ^a	0.88±0.12 ^a	0.98±0.08 ^a	0.28±0.04 ^b	2.67±0.30 ^a	1.19±0.04 ^a
MS9	7.12±0.38 ^a	3.62±0.42 ^b	13.10±0.63 ^a	10.20±0.42 ^a	0.27±0.04 ^a	0.07±0.09 ^b	0.10±0.00 ^a	0.04±0.00 ^a	0.39±0.10 ^a	0.12±0.02 ^a	1.61±0.09 ^a	0.35±0.09 ^b	0.66±0.01 ^a	0.18±0.01 ^b	2.52±0.07 ^a	0.76±0.12 ^a
MS10	10.21±0.82 ^a	5.71±0.25 ^b	14.52±0.61 ^a	7.85±2.11 ^b	0.41±0.09 ^a	0.10±0.17 ^a	0.21±0.02 ^a	0.06±0.00 ^b	0.47±0.10 ^a	0.14±0.01 ^b	1.96±0.08 ^a	0.60±0.17 ^b	1.14±0.10 ^a	0.33±0.04 ^b	2.83±0.08 ^a	0.97±0.02 ^b

注:不同小写字母表示温度间差异显著($P < 0.05$),N 表示正常处理,H 表示高温处理。

2.3 高温胁迫对不同紫花苜蓿品种幼苗 MDA 含量的影响

高温胁迫处理 14 d 后,10 个紫花苜蓿品种叶片中的 MDA 含量均显著高于对照组($P < 0.05$),MS1—

MS10 较对照组分别上升 4.50%、39.20%、5.50%、16.40%、24.60%、18.80%、34.30%、33.10%、7.50% 和 62.90%,MS10 和 MS2 品种上升幅度较大(图 2)。

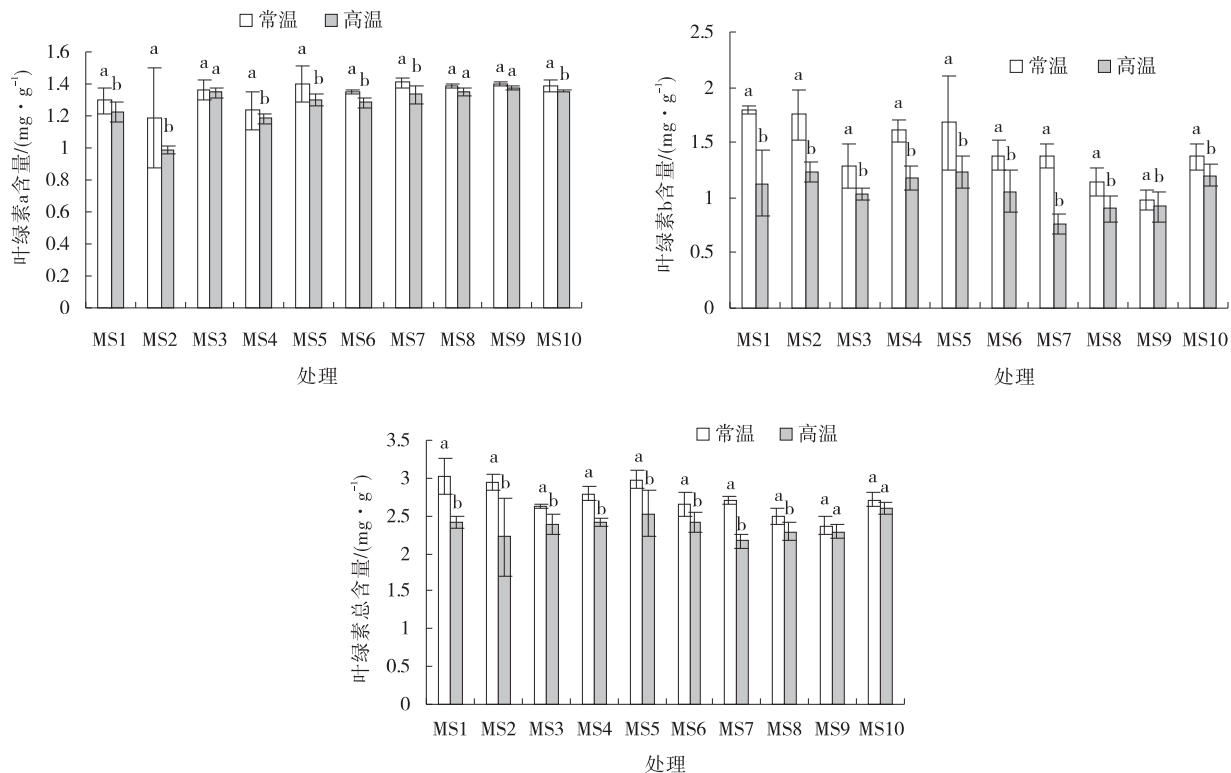


图 1 不同处理下紫花苜蓿叶片中的叶绿素含量

Fig. 1 Impact of different treatments on chlorophyll content of alfalfa leaves

注:不同小写字母表示同一紫花苜蓿品种在不同处理间差异显著($P < 0.05$),下同

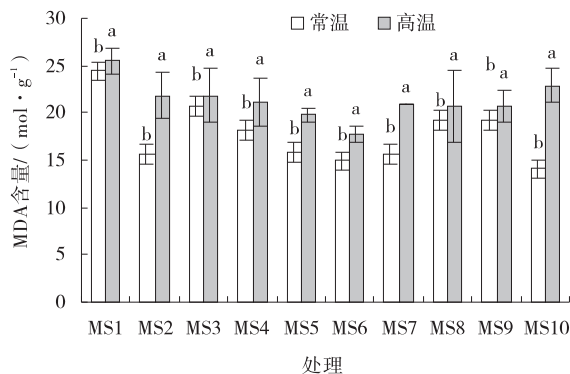


图 2 不同处理下紫花苜蓿叶片中的 MDA 含量

Fig. 2 Effect of different treatments on MDA content of alfalfa leaves

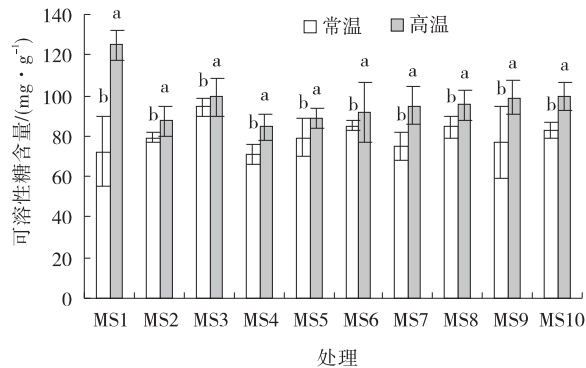


图 3 不同处理下紫花苜蓿叶片中的可溶性糖含量

Fig. 3 Effects of temperature treatments on the content of soluble sugar in alfalfa leaves

2.4 高温胁迫对不同紫花苜蓿品种幼苗可溶性糖含量的影响

高温胁迫下,10个紫花苜蓿品种幼苗叶片中的可溶性糖含量均高于对照组。高温胁迫下紫花苜蓿叶片中可溶性糖含量与对照组具有显著性差异($P < 0.05$) (图3)。高温胁迫下,MS1-MS10可溶性糖含量较对照组分别上升72.50%、10.70%、4.90%、19.20%、12.40%、7.50%、27.75%、13.20%、28.00%和19.90%。

2.5 高温胁迫对不同紫花苜蓿品种抑制率的影响

2.5.1 高温胁迫下紫花苜蓿各单项指标的抑制率
高温胁迫下紫花苜蓿各单项指标的抑制率如表3所示。

2.5.2 各项指标抑制率间的 Pearson 相关性分析
株高与茎鲜重呈显著正相关,与叶绿素 b 含量极显著负相关(表4)。根长与 MDA 含量呈显著负相关。根鲜重与叶鲜重呈显著正相关。叶鲜重与可溶性糖含量

表 3 高温胁迫下 10 个紫花苜蓿品种各项指标的抑制率

Table 3 Inhibition rate of 10 indexes in alfalfa under high temperature stress

	PL	RL	RDW	SDW	LDW	RFW	SFW	LFW	Chla	Chlb	Chl	MDA	SS
MS1	0.12	0.24	0.58	0.55	0.70	0.88	0.53	0.74	0.05	0.37	0.20	-0.04	-0.73
MS2	0.30	0.26	0.69	0.45	0.62	0.86	0.49	0.69	0.17	0.30	0.25	-0.39	-0.11
MS3	0.27	0.11	0.39	0.25	0.63	0.40	0.39	0.58	0.01	0.20	0.09	-0.05	-0.05
MS4	0.30	0.30	0.76	0.71	0.70	0.74	0.64	0.68	0.04	0.27	0.14	-0.16	-0.19
MS5	0.44	0.12	0.64	0.83	0.63	0.64	0.68	0.64	0.07	0.26	0.15	-0.25	-0.12
MS6	0.45	0.20	0.60	0.78	0.46	0.76	0.74	0.53	0.05	0.23	0.09	-0.19	-0.08
MS7	0.20	0.24	0.78	0.46	0.63	0.71	0.59	0.66	0.05	0.45	0.20	-0.34	-0.27
MS8	0.39	0.09	0.70	0.74	0.56	0.41	0.71	0.55	0.03	0.21	0.08	-0.08	-0.13
MS9	0.49	0.22	0.74	0.60	0.69	0.78	0.73	0.70	0.02	0.06	0.03	-0.08	-0.28
MS10	0.44	0.46	0.76	0.71	0.70	0.69	0.71	0.66	0.03	0.12	0.05	-0.63	-0.20

注: PL,RL,RDW,SDW,LDW,RFW,SFW,LFW,Chla,Chlb,Chl,MDA,SS 分别表示株高,根的长度,根干重,茎干重,叶干重,根鲜重,茎鲜重,叶鲜重,叶绿素 a,叶绿素 b,叶绿素的总含量,MDA 含量,可溶性糖含量,下同

表 4 高温胁迫下紫花苜蓿各项指标抑制率间的 Pearson 相关性分析

Table 4 Pearson correlation between different parameters in alfalfa under high temperature stress

	PL	RL	RDW	SDW	LDW	RFW	SFW	LFW	Chla	Chlb	Chl	MDA	SS
PL	1	0.008	0.230	0.592	-0.288	-0.171	0.725*	-0.397	-0.144	-0.796**	-0.703*	-0.209	0.580
RL		1	0.532	0.106	0.483	0.540	0.180	0.491	0.094	-0.100	-0.015	-0.730*	-0.225
RDW			1	0.461	0.249	0.389	0.609	0.353	0.161	0.023	0.030	-0.495	-0.070
SDW				1	-0.219	0.116	0.876**	-0.182	-0.077	-0.232	-0.293	-0.152	0.070
LDW					1	0.250	-0.215	0.836**	-0.122	-0.064	0.064	-0.130	-0.499
RFW						1	0.103	0.690*	0.501	0.255	0.451	-0.238	-0.524
SFW							1	-0.198	-0.258	-0.411	-0.534	-0.178	0.099
LFW								1	0.272	0.204	0.418	-0.141	-0.681*
Chla									1	0.376	0.753*	-0.358	0.096
Chlb										1	0.859**	-0.010	-0.352
Chl											1	-0.102	-0.284
MDA												1	-0.231
SS													1

注: * 表示 0.05 水平上具有显著相关性,**表示 0.01 水平上具有极显著相关性

显著负相关。叶绿素 b 含量与叶绿素总含量呈现极显著正相关。

2.5.3 紫花苜蓿耐热性评价 在利用隶属函数对 10 个紫花苜蓿品种的耐热性进行评价时,根据叶绿素的抑制率与紫花苜蓿的耐高温能力呈反比例关系采用反隶属函数公式计算叶绿素含量的隶属函数值;可溶性糖含量和 MDA 含量与紫花苜蓿的高温敏感性呈正比例关系,所以用隶属函数公式计算其隶属函数值。结果表明,MS3 品种的隶属函数值最高,均值为 0.84,MS8 和 MS6 次之,均值分别为 0.64、0.57。MS10 的隶属函数值均值仅为 0.36,为各品种中最低;MS1 和

MS2 的隶属函数值也仅为 0.41 和 0.38,处于较低的水平(表 5)。高温胁迫下紫花苜蓿 MS3、MS6 和 MS8 属于对高温耐受力较强的材料,而紫花苜蓿 MS1、MS2 和 MS10 则是对高温相对较敏感型材料。

3 讨论

对不同紫花苜蓿品种进行耐热性评价有助于进一步探究高温对紫花苜蓿生长和生理的影响和培育耐高温的紫花苜蓿品种。由于长江中下游地区夏季高温天气温度维持在 38℃左右,所以本研究采用培养箱模拟 38℃高温环境,探究了高温胁迫对 10 个紫花苜蓿品种生长和生理特性的影响,通过隶属函数分析进行耐热

表 5 高温胁迫下 10 个品种紫花苜蓿隶属函数分析

Table 5 Analysis of membership function of 10 alfalfa under high temperature stress

材料	各项指标的隶属函数值													均值	排序
	PL	RL	RDW	SDW	LDW	RFW	SFW	LFW	Chl _a	Chl _b	Chl	MDA	SS		
MS1	1.00	0.59	0.51	0.48	0.00	0.00	0.60	0.00	0.75	0.21	0.23	1.00	0.00	0.41	8
MS2	0.51	0.54	0.23	0.66	0.33	0.04	0.71	0.24	0.00	0.38	0.00	0.41	0.91	0.38	9
MS3	0.59	0.95	1.00	1.00	0.29	1.00	1.00	0.76	1.00	0.64	0.73	0.98	1.00	0.84	1
MS4	0.51	0.43	0.05	0.21	0.00	0.29	0.29	0.29	0.81	0.46	0.50	0.80	0.79	0.42	7
MS5	0.14	0.92	0.36	0.00	0.29	0.50	0.17	0.48	0.63	0.49	0.45	0.64	0.90	0.46	5
MS6	0.11	0.70	0.46	0.09	1.00	0.25	0.00	1.00	0.75	0.56	0.73	0.75	0.96	0.57	3
MS7	0.78	0.59	0.00	0.64	0.29	0.35	0.43	0.38	0.75	0.00	0.23	0.49	0.68	0.43	6
MS8	0.27	1.00	0.21	0.16	0.58	0.98	0.09	0.90	0.88	0.62	0.77	0.93	0.88	0.64	2
MS9	0.00	0.65	0.10	0.40	0.04	0.21	0.03	0.19	0.94	1.00	1.00	0.93	0.66	0.47	4
MS10	0.14	0.00	0.05	0.21	0.00	0.40	0.09	0.38	0.88	0.85	0.91	0.00	0.78	0.36	10

注:表中隶属函数值根据各项指标的抑制率进行计算

性综合评价。

根系是植物生长发育过程中获取水分和养分关键的部分,根系的健康状况对植物水分和养分的吸收具有重要影响^[9]。本研究发现,高温胁迫下 10 个紫花苜蓿品种的根长和根重均低于对照组(表 2)。据报道,在高温下植株的生长状态普遍表现为生长缓慢、枯萎甚至在较高的温度下部分植株也会发生死亡的现象^[3]。在夏季最高温度超过 35℃ 的地区,紫花苜蓿越夏时有死亡现象,研究表明温度越高、胁迫时间越长植物生长状态越差^[10-11],且高温后恢复生长的时间较为缓慢^[12-13],本研究结果与之一致。此外,本研究中紫花苜蓿植株不同部位的生物量对高温胁迫的响应存在差异。本研究认为根系的健康状况将直接影响茎和叶部的水分、养分吸收,根系越健康则植株也越健康,抵抗逆境的能力也就越强。

叶绿素是植物进行光合作用的重要色素。本研究结果显示,高温胁迫下紫花苜蓿的叶绿素含量均低于对照组(图 1)。杨秋珍等^[14]发现高温胁迫下的甜瓜叶片叶绿素含量呈下降的趋势,且随着胁迫时间的延长下降的幅度增大,本实验与其结果相一致,宰学明等^[15]研究表明在高温 42℃ 处理过程中,花生幼苗的叶绿素含量随着处理时间的延长而下降,表现为初期下降幅度平缓,后期变化明显。任翔等^[5]研究表明高温可引起叶绿素分解,导致叶片衰老,高温使得紫花苜蓿发生明显的光抑制作用。其原因可能是高温胁迫促使 ROS 形成^[16],破坏 ROS 和抗氧化体系代谢之间的动态平衡,而叶绿体作为 ROS 的主要生成位点容易被氧化剂攻击^[17-18]。叶绿素合成受限和自由基对叶绿素

的诱导使高温胁迫下紫花苜蓿叶片中的叶绿素含量降低^[18-19]。

生理响应是植物对逆境胁迫响应的重要内在体现。本研究发现高温胁迫处理 14 d 后 10 个紫花苜蓿品种叶片中的 MDA 含量显著高于对照(图 2),该结果与刘大林等^[3]对高温胁迫下紫花苜蓿叶片中 MDA 含量变化的规律一样。其原因可能是长期高温情况下脂类形成了囊泡,从而破坏了膜结构,使膜失去了选择透性和主动吸收能力。此外,高温破坏了细胞内活性氧产生与清除之间的平衡,使得氧化物在细胞膜内大量积累。MDA 含量是衡量脂膜过氧化程度的重要指标,紫花苜蓿叶片的细胞膜结构遭到破坏,细胞的半透性失效使得细胞膜中物质渗透出来。在高温胁迫下,MDA 在植物体内的积累导致蛋白质的交联和聚合,影响细胞膜的流动性,从而对植物的正常生长造成直接伤害^[20-21]。

可溶性糖作为渗透调节物质,当植物受到非生物因子胁迫时,渗透调节物质的含量会增加以提高细胞液的渗透压,提高细胞保水能力及从外环境的吸水能力,从而防止植物脱水,缓解胁迫对膜系统的损害,保护和调节植物正常生长^[22]。本次研究发现,高温胁迫下紫花苜蓿叶片中可溶性糖含量均高于对照组(图 3),结果与刘大林等^[3]的研究相一致。赵壮军等^[23]通过对高羊茅初级代谢产物的分析发现,根系中的有机酸和脂肪酸含量较多,而氨基酸、糖类以糖醇普遍积累在植株叶片中。紫花苜蓿可能通过利用糖醇和肌醇的抗氧化能力来更好地适应高温逆境。紫花苜蓿可以将淀粉转化为可溶性糖或通过光合作用直接合成高浓度

的可溶性糖来维持紫花苜蓿的呼吸作用^[24-25],从而出现可溶性糖升高的结果。

本研究中株高、根长、根茎叶干鲜重、叶绿素含量、MDA含量、可溶性糖含量等生长、生理指标在高温胁迫前后的变化特征表明,紫花苜蓿不同品种之间不能通过单一的指标来准确判断其耐热性的强弱,必须对多个生理指标进行综合分析评价。近年来,隶属函数法被广泛应用于植物的抗逆性评价^[26],该方法已在黄瓜^[27],香菇^[28],大白菜^[29],杜鹃^[30]等作物上应用,效果良好。隶属函数法作为耐热性评价的常用方法,所用的指标可分为3种:1)用发芽率、发芽势、发芽指数、抗旱指数等来评价;2)用各指标的隶属函数值累加求平均来评价;3)用各指标的相对值来评价^[27-29]。在10个品种中,WL-712系列虽然其秋眠级较高,但是通过隶属函数值分析其耐热性较差,说明秋眠级高低与耐热性强弱并无必然联系。本研究采用生长、生理等13个指标,计算各指标的隶属函数值并累加求平均值来评价10个紫花苜蓿品种的耐热性,其耐热性强弱依次为:WL-319HQ>WL65HQ>WL-354>WL-903>WL-168>爱菲>WL-363>三德利>维多利亚>WL-712。

4 结论

高温胁迫对不同紫花苜蓿品种幼苗生长和生理特性具有一定的影响。具体表现为,高温处理14 d后的各项生长指标均低于对照组;叶绿素含量降低;细胞内MDA含量显著上升;可溶性糖含量上升。耐热性综合评价表明,紫花苜蓿 WL-319HQ, WL-656HQ 和 WL-354 是高温耐受型品种, WL-712, 三德利和维多利亚是高温敏感型品种。

参考文献:

[1] Paravia A, Saiema R. Emerging technologies and management of crop stress tolerance[M]. Amsterdam: Elsevier, 2014.

[2] 张鹤山, 刘洋, 田宏, 等. 19个紫花苜蓿品种的耐热性研究[J]. 中国草地学报, 2008, 30(6): 16-21.

[3] 刘大林, 张华, 曹喜春, 等. 夏季高温胁迫对紫花苜蓿部分生理生化指标的影响[J]. 中国草地学报, 2013, 35(9): 933-936.

[4] 李德峰. 紫花苜蓿夏季减产原因分析及评价紫花苜蓿抗热性指标筛选[D]. 郑州: 河南农业大学, 2015.

[5] 任翔, 杨雨薇, 陆叶, 等. 外源硅酸钾对高温胁迫下紫花苜蓿生长生理的影响[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2020, 41(3): 1-5.

[6] 施海涛. 植物逆境生理学实验指导[M]. 北京: 科学出版社, 2016: 2-3.

[7] 徐澜, 刘艳超, 安伟, 等. 冬麦春播小麦对苗期干旱胁迫的生理响应[J]. 甘肃农业大学学报, 2020, 55(6): 40-47.

[8] 胡化广, 张振铭, 沈晓华. 五种草坪草对水涝胁迫的反应及耐涝评价[J]. 草地学报, 2011, 19(2): 253-256.

[9] Lynch J P. Root phenes that reduce the metabolic costs of soil exploration: opportunities for 21st century agriculture [J]. Plant, Cell & Environment, 2015, 38(9): 1775-1784.

[10] 李荣, 王玉佳, 何承刚, 等. 干旱胁迫对紫花苜蓿形态特征及光合色素含量的影响[J]. 草原与草坪, 2015, 35(1): 37-43.

[11] Craufurd P Q, Prasad P V, Kakani V G, et al. Heat tolerance in groundnut [J]. Field Crops Research, 2003, 80(1): 63-77.

[12] 耿华珠. 中国苜蓿[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.

[13] 安渊, 胡雪华, 陈凡毅. 半秋眠和非秋眠紫花苜蓿生长规律及再生性研究[J]. 中国草地, 2003, 25(5): 43-47.

[14] 杨秋珍. 高温胁迫下甜瓜生理生态特性研究[J]. 中国生态农业学报, 2003, 11(1): 20-22.

[15] 宰学明, 吴国荣, 孙丽娟. 植物对高温逆境适应机理的研究进展[J]. 南京农专学报, 2002(4): 30-32.

[16] 卢奕霏, 顾迎港, 陈威, 等. 高温对小麦花药活性氧代谢的影响[J]. 麦类作物学报, 2020, 40(4): 488-493.

[17] Puyang X, An M, Xu L, et al. Antioxidant responses to waterlogging stress and subsequent recovery in two Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) cultivars [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2015, 37(10): 197.

[18] Zheng C, Jiang D, Liu F, et al. Effects of salt and waterlogging stresses and their combination on leaf photosynthesis, chloroplast ATP synthesis, and antioxidant capacity in wheat [J]. Plant Science, 2009, 176(4): 575-582.

[19] Ou L J, Dai X Z, Zhang Z Q, et al. Responses of pepper to waterlogging stress [J]. Photosynthetica, 2011, 49(3): 339.

[20] 薛亚荣, 巴特儿·巴克. 沙尘胁迫对新疆引进欧洲李叶片光合和荧光特性的影响[J]. 经济林研究, 2018, 36(4): 129-135.

[21] 何玮, 徐远东. 红三叶耐热生理指标主成分分析及聚类分析[J]. 草业与畜牧, 2012(9): 5-8.

- [22] 偶春,姚侠妹,姚晓洁,等. 外源 5-氨基乙酰丙酸和 PEG 处理下栀子幼苗光合及抗氧化特性变化[J]. 干旱地区农业研究,2016,34(6):235-242.
- [23] 赵状军,胡龙兴,胡涛,等. 不同品系高羊茅应答高温胁迫的初级代谢产物分析[J]. 草业学报,2015,24(3):58-69.
- [24] 杨华庚. 高温胁迫对蝴蝶兰幼苗叶绿素及其荧光参数的影响[J]. 中国农学通报,2012,28(19):184-190.
- [25] 解春霞,刘云鹏,陈红威,等. 施肥处理对杨树黄化苗木叶部氧化酶及叶绿素含量的影响[J]. 江苏林业科技,2011,38(6):11-15.
- [26] 汤佳乐,卜范文,张平,等. 7 种猕猴桃种质耐热性综合评价[J]. 湖南农业科学,2018(12):21-25.
- [27] 黄建都,林翻飞,王艳娜,等. 黄瓜芽期耐热相关指标的筛选及预测方程的建立[J]. 江西农业学报,2019,31(12):8-12.
- [28] 宋爽,荣成博,严冬,等. 不同香菇栽培种质耐热性评价[J]. 北方园艺,2020(1):117-121.
- [29] 白晨熙. 不同品种大白菜耐热性鉴定[D]. 泰安:山东农业大学,2019.
- [30] 李辉,苏家乐,李畅,等. 高温胁迫下杜鹃不同品种的生理响应及其耐热性综合评价[J]. 江苏林业科技,2018,45(5):1-9.

Evaluation of membership function on heat tolerance of 10 alfalfa varieties

YANG Yu-wei¹, WANG Lin², LU Jun-feng¹, REN Xiang¹, XU Xin¹, LIU Da-lin¹

(1. College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;
2. Joint International Research Laboratory of Agriculture and Agri-Product Safety, the Ministry of Education of China, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: This study used 10 different varieties of alfalfa (*Medicago sativa*) to investigate the effects of high temperature stress on the growth and physiological characteristics at 38°C/28°C (day/night), and identify the alfalfa varieties with strong heat resistance and heat sensitivity. The results showed that all growth parameters and chlorophyll content of alfalfa under the heat stress were lower than those of the control, while MDA content and soluble sugar content under heat stress were higher compared with the control. Through the comprehensive evaluation of 10 germplasm materials, three alfalfa varieties (WL-319HQ, WL-656HQ and WL-354) with high heat tolerance and another three alfalfa varieties (Sanditi, WL-712 and Vectoria) with high temperature sensitivity were identified, which provided useful germplasm for further study.

Key words: heat resistance; alfalfa; high temperature stress; growth and physiology