

30份苜蓿种质材料对低温胁迫的生理响应及其耐寒性评价

马彪,南丽丽*,汪堃,姚宇恒,陈洁,夏静

(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:【目的】筛选和评价耐低温苜蓿种质。【方法】采用营养液沙培法,对生长30 d的30份国内外苜蓿种质进行低温胁迫处理。以室温生长幼苗为对照,在-7℃分别经过2、4、6、8 h处理后测定供试苜蓿的生理指标。【结果】随低温胁迫时间延长,供试苜蓿叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素含量递减,较对照分别降低6.1%~71.10%、6.61%~63.01%、6.18%~69.03%,电导率和丙二醛含量递增,较对照分别增加44.6%~55.54%、8.49%~47.7%,脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量及过氧化物酶和过氧化氢酶活性先增后降且在低温胁迫6 h时增至最大,超氧化物歧化酶活性呈先增后降再增趋势并在低温胁迫4 h时增幅最高、6 h时增幅最低。【结论】经隶属函数综合评价,可将30份苜蓿分为4类,其中新品系P1、P2、P3、P4耐低温性好,可用于苜蓿耐低温新品种选育研究。

关键词:苜蓿;耐寒性;生理指标;综合评价

中图分类号:S541.9 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2024)06-0170-11

DOI:10.13817/j.cnki.cyycp.2024.06.019



低温胁迫是危害植物生长发育最重要的非生物胁迫因子之一^[1]。低温胁迫下,植物体内的酶活性及各类渗透调节物质会发生相应改变以提高植物的抗寒性^[2]。如过氧化氢酶(catalase, CAT)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)对消除活性氧自由基、增强植物抗寒性具有重要作用^[3]。研究表明,3种酶活性增强,植物受冻害影响减小^[4]。脯氨酸(Proline, Pro)作为渗透调节物质,有研究认为Pro积累多的品种抗寒性强^[5];也有研究报道,逆境胁迫下Pro与抗寒强弱没有关联^[6]。渗透调节物质可溶性蛋白质(Soluble protein, SP)、可

溶性糖(Soluble sugar, SS)逆境下大量积累可提高植株的抗寒能力^[7]。细胞膜透性在低温胁迫下增大,导致丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量增多,丙二醛具有较强的细胞毒性,其含量可反映细胞膜受损程度^[8]。电导率能客观反映植物在低温逆境中的受伤害状况。耐寒性强的植物受冻害轻,电导率增加少;耐寒性弱的植物受冻害重,电导率显著增大且难以恢复正常^[9]。低温胁迫会干扰植株光合作用,抑制叶绿素和叶绿体的合成^[10]。低温胁迫下,李属砧木(*Prunus root stock*)^[11]、茄子(*Solanum melongena*)^[12]、甘蔗(*Saccharum officinarum*)^[13]的相对电导率、丙二醛、可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸含量较对照增加;李永等^[14]研究表明低温胁迫下,叶绿素含量显著降低;黄瓜(*Cucumis sativus*)^[15]、草莓(*Fragaria ananassa*)^[16]在低温胁迫下表现出超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶活性均高于对照,以降低低温对植物的损伤。

苜蓿(*Medicago sativa*)作为优质蛋白饲草,具有固氮、耐盐碱、适口性好、抗寒、抗旱、粗蛋白含量高、

收稿日期:2023-03-17; **修回日期:**2023-04-14

基金资助:国家自然科学基金(32160327);甘肃省科技计划(22YF7NA112);财政部和农业农村部:国家现代农业产业技术体系(CARS-34)

作者简介:马彪(1997-),男,甘肃定西人,硕士研究生。

E-mail:14793309516@163.com

*通信作者。E-mail:nanll@gsau.edu.cn

干草产量高等优点,在草地农业和生态建设工程中的重要性日益突显,其栽培面积逐年增加^[17]。我国苜蓿主要在北方种植,甘肃、内蒙古、宁夏、陕西和新疆占总种植面积的 89.8%^[18]。但我国北方特别是西北地区,因春季温度偏低和冬季寒冷,苜蓿大面积种植不能保证安全越冬,其稳定生产和经济效益均受到很大影响^[19]。收集和筛选抗寒苜蓿种质,系统分析不同种质在低温环境下的抗逆性,可为我国北方地区苜蓿新品种培育提供理论指导。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试苜蓿材料共 30 份,其中 zxy2010p-7451、zxy2010p-15485、zxy2010p-7809、zxy2010p-7667、zxy2010p-7765、zxy2010p-15549、zxy2010p-7551、zxy2010p-7740、zxy2010p-7843、zxy2010p-7157、zxy2010p-15354、zxy2012p-9004、zxy2010p-7669、zxy2010p-7481、zxy2010p-7657、zxy2010p-7470、zxy2010p-7097、zxy2010p-7715、zxy2008p-5486、zxy2010p-7915、zxy2010p-7254、zxy2010p-15578、zxy2010p-15558 共 23 份为农业部全国畜牧兽医总站牧草种质资源搜集保护项目协作组从俄罗斯瓦维洛夫植物基因库引进,P1、P2、P3、P4 为甘肃农业大学选育的新品系,清水紫花苜蓿 (*M. sativa* 'Qingshui', CK1)、陇东紫花苜蓿 (*M. sativa* 'Longdong', CK2) 和公农 4 号杂花苜蓿 (*M. varia* Martin 'Gongnong No. 4', CK3) 种子由甘肃农业大学草业学院提供。

1.2 试验设计

在甘肃农业大学植物生长室,选用消毒后的细沙 (121 °C, 高温灭菌 30 min) 500 g 装入塑料杯 (138 mm×95 mm),经 75% 乙醇溶液消毒后的苜蓿种子均匀播种在塑料杯中并覆沙 2 cm,每份材料种植 15 杯。每隔 2 d 浇灌 150 mL Hoagland 营养液。出苗后间苗,每杯保留生长一致、分布均匀的幼苗 20 株。生长 30 d 后,将各材料置于 10 °C 的培养箱中预冷 24 h,以 25 °C 生长材料为对照,在低温培养箱设置 -7 °C (此温度下苜蓿幼苗生理指标变化明显)^[20] 下分别处理 2、4、6、8 h。各时间节点,采集幼苗测定各项指标,每个处理 3 次重复。

1.3 测定指标及方法

生理指标参考邹琦^[21]的方法进行,叶绿素 (Chlorophyll) 含量、相对电导率 (Relative conductivity)、可溶性蛋白质 (Soluble protein, SP)、可溶性糖 (Soluble sugar, SS)、脯氨酸 (Proline, Pro)、丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 含量、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、过氧化物酶 (peroxidase, POD)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性分别采用丙酮乙醇混合液提取法、电导仪法、考马斯亮蓝 G-250 染色法、蒽酮比色法、酸性茚三酮比色法、硫代巴比妥酸法、高锰酸钾滴定法、愈创木酚法和氮蓝四唑法进行测定。

1.4 数据统计分析

用 Excel 2019 处理数据,SPSS 16.0 进行聚类分析,利用隶属函数法对供试苜蓿耐寒性进行综合评价。参考前人方法进行^[22],权重采用客观赋权法进行计算:

$$I_j = C_j / S_j$$

式中: C_j 为第 j 个指标正常组的测定值, S_j 为第 j 个指标在某个胁迫处理下所测定的平均值, I_j 为测定值与对照组的比值。

若为负相关,则 $I_j = S_j / C_j$ 。每个评价指标的权重:

$$W_j = I_j / \sum I_j$$

$$\text{综合评价值: } D = \sum (F_{ij} \times W_j)$$

D 值越大,其耐低温性越强。式中,计算各生理指标的相对值,其相对值 = 低温处理下各指标测得值 / 室温下各指标测得值。对与低温胁迫呈正相关的指标 (叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总浓度、SP、SS、Pro、SOD、POD、CAT) 采用正函数公式, $F_{ij} = (X_{ij} - X_{j\min}) / (X_{j\max} - X_{j\min})$; 对与低温胁迫呈负相关的指标 (MDA、电导率) 采用负函数公式:

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

式中: F_{ij} 为 i 品种的 j 性状测定的具体隶属值; X_{ij} 为 i 品种 j 性状测定值; $X_{j\min}$ 为 j 性状中测定的最小值; $X_{j\max}$ 为 j 性状中测定的最大值。

2 结果与分析

2.1 低温对叶绿素含量的影响

供试苜蓿叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总浓度相对值变化范围分别为 0.145~0.994、0.154~0.999、0.163~0.979,其相对值随低温胁迫时间延长呈下降

趋势,较对照分别降低 6.1%~71.10%、6.61%~63.01%、6.18%~69.03%,当胁迫 8 h 时,CK1 的叶绿素 a 及材料 Zxy2010p-7809 的叶绿素 b、叶绿素总含量相对值均最小(表 1)。

表 1 低温胁迫下供试苜蓿叶绿素含量相对值
Table 1 Relative values of chlorophyll contents of tested alfalfa under low temperature stress

品种(品系)	叶绿素 a				叶绿素 b				叶绿素总浓度			
	2 h	4 h	6 h	8 h	2 h	4 h	6 h	8 h	2 h	4 h	6 h	8 h
P1	0.938	0.920	0.721	0.442	0.968	0.875	0.685	0.432	0.946	0.907	0.710	0.439
P2	0.964	0.601	0.509	0.469	0.901	0.614	0.479	0.454	0.945	0.605	0.501	0.465
P3	0.906	0.600	0.554	0.538	0.805	0.469	0.400	0.388	0.873	0.556	0.503	0.489
P4	0.672	0.665	0.663	0.513	0.953	0.903	0.850	0.689	0.730	0.714	0.702	0.549
Zxy2008p-5486	0.731	0.590	0.490	0.435	0.727	0.630	0.630	0.522	0.730	0.601	0.526	0.458
Zxy2010p-7097	0.773	0.718	0.571	0.456	0.768	0.720	0.671	0.435	0.772	0.718	0.598	0.450
Zxy2010p-7157	0.950	0.868	0.547	0.409	0.928	0.749	0.573	0.412	0.944	0.833	0.555	0.410
Zxy2010p-7254	0.684	0.615	0.537	0.472	0.759	0.639	0.582	0.466	0.705	0.621	0.549	0.471
Zxy2010p-7451	0.994	0.967	0.874	0.666	0.940	0.874	0.810	0.668	0.979	0.941	0.856	0.667
Zxy2010p-7470	0.942	0.882	0.539	0.445	0.986	0.871	0.563	0.519	0.954	0.879	0.546	0.465
Zxy2010p-7481	0.950	0.752	0.555	0.546	0.873	0.739	0.581	0.476	0.928	0.749	0.563	0.526
Zxy2010p-7551	0.926	0.661	0.618	0.412	0.999	0.633	0.579	0.431	0.947	0.653	0.607	0.418
Zxy2010p-7657	0.713	0.710	0.690	0.567	0.836	0.643	0.638	0.573	0.746	0.692	0.676	0.568
Zxy2010p-7667	0.803	0.630	0.606	0.292	0.668	0.534	0.474	0.244	0.761	0.600	0.565	0.277
Zxy2010p-7669	0.497	0.480	0.477	0.440	0.379	0.365	0.354	0.332	0.455	0.440	0.434	0.402
Zxy2010p-7715	0.967	0.876	0.838	0.659	0.895	0.870	0.791	0.570	0.946	0.874	0.824	0.634
Zxy2010p-7740	0.927	0.719	0.652	0.422	0.820	0.725	0.611	0.387	0.896	0.721	0.640	0.412
Zxy2010p-7765	0.753	0.530	0.459	0.368	0.660	0.420	0.392	0.273	0.723	0.493	0.436	0.337
Zxy2010p-7809	0.985	0.721	0.504	0.167	0.667	0.548	0.360	0.154	0.872	0.659	0.453	0.163
Zxy2010p-7843	0.762	0.623	0.594	0.523	0.856	0.748	0.595	0.501	0.788	0.658	0.594	0.516
Zxy2010p-7915	0.709	0.590	0.532	0.429	0.615	0.465	0.448	0.400	0.680	0.551	0.506	0.420
Zxy2012p-9004	0.636	0.472	0.471	0.451	0.564	0.551	0.460	0.382	0.613	0.496	0.467	0.430
Zxy2010p-15354	0.975	0.529	0.458	0.312	0.969	0.627	0.574	0.373	0.973	0.557	0.490	0.329
Zxy2010p-15485	0.803	0.746	0.638	0.365	0.681	0.637	0.537	0.336	0.767	0.714	0.608	0.356
Zxy2010p-15549	0.933	0.681	0.645	0.565	0.916	0.686	0.665	0.625	0.928	0.683	0.650	0.581
Zxy2010p-15558	0.923	0.883	0.811	0.254	0.994	0.858	0.794	0.305	0.942	0.876	0.807	0.268
Zxy2010p-15578	0.946	0.877	0.751	0.358	0.908	0.883	0.685	0.391	0.935	0.879	0.732	0.367
CK1	0.876	0.743	0.657	0.145	0.987	0.835	0.661	0.224	0.906	0.767	0.658	0.166
CK2	0.793	0.760	0.349	0.243	0.852	0.699	0.329	0.273	0.810	0.743	0.344	0.252
CK3	0.809	0.807	0.616	0.378	0.879	0.711	0.590	0.412	0.829	0.780	0.608	0.387

2.2 低温对相对电导率、MDA 含量的影响

供试苜蓿相对电导率、MDA 相对值变化范围分别为 1.010~6.224、1.005~4.324,其相对值均大于 1,表明相对电导率和 MDA 随低温胁迫时间增加持续递增,较对照分别增加 44.6%~55.54%、8.49%~47.7%,当胁迫 8 h 时,其值增至最大,新品系 P1 的相对电导率及材料 Zxy2010p-15549 的 MDA 相对值最大(表 2)。

2.3 低温对渗透调节物质的影响

供试苜蓿 Pro、SP、SS 相对值随低温胁迫时间增加均表现为先增加后降低趋势,胁迫时间为 2、4、6、8 h 时,其变化范围分别为 1.007~4.927、1.116~14.157、1.781~21.674 和 1.122~14.367,0.961~1.416、1.011~1.446、1.037~1.493 和 1.010~1.469,0.908~1.606、0.995~1.781、1.207~2.672 和 1.024~2.051(表 3)。均在低温胁迫 6 h 时增至最大,低温胁迫 8 h 时,材料 Zxy2010p-7669 的 Pro、

表 2 低温胁迫下供试苜蓿相对电导率及丙二醛相对值

Table 2 Relative values of relative conductivity and MDA content of tested alfalfa under low temperature stress

品种(品系)	相对电导率				丙二醛			
	2 h	4 h	6 h	8 h	2 h	4 h	6 h	8 h
P1	3.956	4.811	5.550	6.224	1.118	1.115	1.377	1.494
P2	1.029	1.442	3.177	4.243	1.248	1.298	1.461	2.028
P3	1.131	1.259	4.701	5.077	1.472	1.500	1.676	1.936
P4	1.343	2.135	3.996	5.741	1.008	1.074	1.127	1.195
Zxy2008p—5486	1.192	2.080	3.046	4.213	1.325	1.656	1.821	2.685
Zxy2010p—7097	2.133	2.558	3.141	4.041	1.444	1.643	1.883	1.890
Zxy2010p—7157	1.336	2.414	3.365	3.487	1.068	1.445	1.792	2.249
Zxy2010p—7254	1.299	4.044	4.304	4.562	1.479	1.488	1.667	1.973
Zxy2010p—7451	1.161	2.401	4.150	4.316	1.110	1.239	1.236	2.022
Zxy2010p—7470	1.146	2.688	4.310	4.788	1.005	1.113	1.323	2.380
Zxy2010p—7481	1.846	2.475	3.773	4.202	1.498	1.806	1.936	2.001
Zxy2010p—7551	1.320	2.275	3.900	4.034	1.306	1.358	1.486	1.862
Zxy2010p—7657	1.053	2.326	2.697	4.304	1.246	1.336	1.162	1.798
Zxy2010p—7667	1.095	2.541	3.300	4.122	1.040	1.102	1.286	1.833
Zxy2010p—7669	1.130	2.695	3.702	4.514	1.036	1.095	1.301	1.431
Zxy2010p—7715	1.162	2.331	4.641	4.754	1.346	1.365	1.580	1.722
Zxy2010p—7740	1.222	2.011	4.317	4.444	1.087	1.107	1.246	1.738
Zxy2010p7765	1.270	2.728	4.236	4.601	1.034	1.080	1.240	1.746
Zxy2010p—7809	1.287	2.578	2.729	4.195	1.119	1.334	1.393	1.467
Zxy2010p—7843	1.195	2.370	3.692	4.257	1.353	1.303	1.828	2.118
Zxy2010p—7915	1.074	2.967	3.428	4.600	1.302	1.331	1.697	1.861
Zxy2012p—9004	1.010	2.579	4.186	4.213	1.174	1.257	1.292	1.822
Zxy2010p—15354	2.299	2.505	3.256	4.313	1.061	1.124	1.879	2.442
Zxy2010p—15485	1.752	3.502	5.945	6.129	1.065	1.318	1.395	1.370
Zxy2010p—15549	1.289	2.225	3.614	3.992	1.531	3.015	3.187	4.324
Zxy2010p—15558	2.911	3.081	3.101	4.777	1.197	1.203	1.292	1.453
Zxy2010p—15578	1.119	2.491	3.286	4.333	1.112	1.200	1.234	1.803
CK1	1.417	2.471	2.713	3.628	1.202	1.213	1.227	1.556
CK2	1.639	2.351	3.212	4.183	1.101	1.145	1.536	1.899
CK3	1.091	2.627	3.811	4.358	1.334	1.359	1.419	1.848

Zxy2010p—15485 的 SP 及 Zxy2010p—7740 的 SS 相对值均最高。

2.4 低温对酶活性的影响

供试苜蓿 POD、SOD、CAT 随低温胁迫时间延长且相对值均大于 1,胁迫时间为 2、4、6、8 h 时,其变化范围分别为 1.019~1.381、1.060~1.966、1.256~2.217 和 1.034~1.814、1.037~3.990、1.256~5.714、1.001~2.120 和 1.100~4.828, 1.010~2.632、1.047~3.028、1.183~3.323 和 1.001~2.784(表 4)。

其中 CAT 和 POD 相对值呈先升高后降低趋势,并在低温胁迫 6 h 时达到峰值,而 SOD 相对值呈先增后降再增趋势,且在低温胁迫 4 h 时增幅最高,低温胁迫 6 h 时增幅最低。

2.5 苜蓿种质耐寒性综合评价

利用隶属函数及权重客观赋权法,对 11 项生理指标进行综合评价。新品系 P1 耐寒性最强,P2 次之,材料 Zxy2010p—7809 最弱(表 5)。

表 3 低温胁迫下供试苜蓿渗透调节物质相对值

Table 3 Relative values of osmosis-regulating substances of tested alfalfa under low temperature stress

品种(品系)	脯氨酸				可溶性蛋白				可溶性糖			
	2 h	4 h	6 h	8 h	2 h	4 h	6 h	8 h	2 h	4 h	6 h	8 h
P1	2.877	10.056	10.697	6.798	1.011	1.113	1.257	1.104	1.313	1.611	2.334	1.746
P2	1.227	1.821	4.170	2.338	1.031	1.085	1.104	1.029	1.221	1.499	1.545	1.060
P3	2.574	7.564	17.050	14.367	1.046	1.068	1.177	1.030	1.330	1.341	1.412	1.265
P4	1.949	6.895	19.021	7.883	1.024	1.026	1.037	1.101	0.977	1.238	1.363	1.173
Zxy2008p—5486	1.223	6.039	6.634	4.084	1.058	1.084	1.081	1.016	1.079	1.637	1.766	1.093
Zxy2010p—7097	2.605	4.213	6.194	3.741	1.185	1.217	1.294	1.098	1.045	1.254	1.558	1.533
Zxy2010p—7157	2.983	6.556	7.491	5.089	1.069	1.071	1.087	1.034	1.138	1.309	1.837	1.551
Zxy2010p—7254	1.338	4.005	5.473	3.636	0.961	1.011	1.092	1.010	1.362	1.445	1.549	1.480
Zxy2010p—7451	2.867	3.559	4.420	3.706	1.017	1.058	1.061	1.039	1.309	1.370	1.739	1.425
Zxy2010p—7470	1.289	4.664	5.580	2.091	1.213	1.299	1.329	1.262	0.991	1.030	1.207	1.206
Zxy2010p—7481	1.616	3.185	4.966	3.809	1.038	1.051	1.200	1.036	0.986	1.165	1.244	1.062
Zxy2010p—7551	2.968	6.998	7.512	4.181	1.014	1.033	1.108	1.062	1.279	1.431	1.466	1.328
Zxy2010p—7657	1.067	1.209	1.397	1.195	1.035	1.039	1.122	1.078	1.034	1.045	1.193	1.024
Zxy2010p—7667	2.867	5.645	13.884	10.212	1.048	1.085	1.124	1.011	1.418	1.490	1.711	1.586
Zxy2010p—7669	3.080	8.779	21.674	14.393	1.416	1.446	1.461	1.296	1.179	1.546	1.845	1.569
Zxy2010p—7715	1.568	2.688	1.781	1.739	1.084	1.089	1.122	1.107	1.215	1.384	1.836	1.204
Zxy2010p—7740	3.041	5.972	9.012	4.315	1.034	1.063	1.104	1.076	1.367	1.509	2.159	2.051
Zxy2010p—7765	2.573	4.224	8.391	5.932	1.016	1.018	1.136	1.082	1.038	1.440	1.527	1.095
Zxy2010p—7809	2.120	4.613	5.602	2.279	0.993	1.024	1.147	1.100	1.151	1.674	1.746	1.313
Zxy2010p—7843	1.273	2.432	2.605	1.733	0.997	1.021	1.068	1.031	0.908	1.164	1.398	1.326
Zxy2010p—7915	1.202	5.875	9.441	8.150	1.027	1.055	1.081	1.043	1.180	1.427	2.128	1.998
Zxy2012p—9004	1.086	1.311	2.127	1.502	0.984	1.083	1.098	1.057	0.931	1.053	2.087	1.291
Zxy2010p—15354	1.013	4.235	3.101	2.974	1.278	1.296	1.451	1.326	1.136	1.625	1.918	1.321
Zxy2010p—15485	4.927	5.898	14.793	11.659	1.271	1.324	1.493	1.469	1.305	1.474	1.644	1.184
Zxy2010p—15549	1.749	3.358	7.000	6.862	1.321	1.350	1.365	1.358	1.558	1.563	1.774	1.545
Zxy2010p—15558	2.691	14.157	17.219	9.533	1.111	1.149	1.250	1.102	1.245	1.241	1.755	1.704
Zxy2010p—15578	1.007	1.116	2.549	1.442	0.998	1.048	1.095	1.046	0.980	0.995	1.988	1.368
CK1	1.482	2.715	2.728	1.864	0.992	1.053	1.305	1.008	1.235	1.475	1.928	1.279
CK2	2.112	6.448	8.285	3.095	0.998	1.094	1.119	1.064	1.136	1.781	2.258	1.302
CK3	1.185	1.918	3.234	1.122	1.091	1.087	1.130	1.119	1.606	1.704	2.672	1.666

2.6 聚类分析

供试苜蓿隶属函数值经欧氏距离平均连锁法进行聚类分析,当欧氏距离为5时可划分为4类(图1)。第1类,包括材料Zxy2008p—5486、CK2、Zxy2010p—7809,各性状指标的相对值均较小,属于低温敏感型;第2类,Zxy2010p—7669、Zxy2010p—15549、Zxy2010p—7551、Zxy2010p—9004、CK3、Zxy2010p—7470、Zxy2010p—15354、Zxy2010p—7254、Zxy2010p—7765、Zxy2010p—7843,各性状指标的相对值小,

属于低温较敏感型;第3类,包括材料Zxy2010p—7667、CK1、Zxy2010p—7451、Zxy2010p—7097、Zxy2010p—7157、Zxy2010p—7740、Zxy2010p—15558、Zxy2010p—7481、Zxy2010p—7715、Zxy2010p—15578、Zxy2010p—7657、Zxy2010p—7915、Zxy2010p—15485,各指标的相对值较高,属于较耐低温型;第4类,包括新品系P1、P2、P3、P4,综合评价价值高,属于耐低温型。

表 4 低温胁迫下供试苜蓿抗氧化物酶活性相对值

Table 4 Relative values of antioxidant enzyme activities of tested alfalfa under low temperature stress

品种(品系)	过氧化物酶 POD				超氧化物歧化酶 SOD				过氧化氢酶 CAT			
	2 h	4 h	6 h	8 h	2 h	4 h	6 h	8 h	2 h	4 h	6 h	8 h
P1	1.019	1.269	1.538	1.524	1.704	1.781	1.463	1.614	1.138	1.786	1.969	1.494
P2	1.020	1.089	1.256	1.089	1.847	2.006	1.023	1.366	1.010	1.047	1.183	1.148
P3	1.091	1.918	1.797	1.794	1.180	2.395	1.653	2.323	1.015	1.082	1.232	1.143
P4	1.063	1.065	1.691	1.474	1.253	1.487	1.182	1.257	1.414	2.024	2.181	1.407
Zxy2008p—5486	1.052	1.518	1.513	1.034	3.990	5.714	1.623	4.838	1.525	2.119	2.444	2.045
Zxy2010p—7097	1.381	1.475	2.177	1.574	1.854	4.060	1.101	3.527	1.659	1.729	2.394	2.144
Zxy2010p—7157	1.177	1.597	1.979	1.183	1.047	1.389	1.234	1.339	1.087	1.085	1.546	1.341
Zxy2010p—7254	1.143	1.264	1.453	1.348	1.537	1.752	1.092	1.299	2.317	2.823	2.893	2.576
Zxy2010p—7451	1.118	1.202	1.474	1.319	1.250	2.803	2.045	2.414	1.393	1.941	2.193	1.765
Zxy2010p—7470	1.024	1.060	1.271	1.092	1.693	2.820	2.120	2.496	2.071	2.437	2.458	2.097
Zxy2010p—7481	1.080	1.393	1.310	1.264	1.674	2.177	1.656	1.742	1.012	1.062	1.185	1.184
Zxy2010p—7551	1.146	1.208	1.643	1.557	1.592	2.020	1.115	1.926	1.117	1.341	1.342	1.198
Zxy2010p—7657	1.090	1.927	2.217	1.693	1.773	1.978	1.353	1.409	1.298	1.512	1.537	1.094
Zxy2010p—7667	1.118	1.444	1.489	1.365	1.176	1.518	1.230	1.474	1.083	1.271	1.347	1.299
Zxy2010p—7669	1.352	1.523	1.557	1.275	1.392	1.443	1.132	1.304	2.173	2.338	2.407	2.379
Zxy2010p—7715	1.238	1.364	1.368	1.114	1.381	1.683	1.003	1.128	1.093	1.255	1.305	1.083
Zxy2010p—7740	1.168	1.569	1.294	1.266	1.190	1.592	1.439	1.518	2.632	3.028	3.323	2.784
Zxy2010p—7765	1.047	1.171	1.461	1.138	1.805	2.071	1.117	1.388	1.046	1.218	1.271	1.185
Zxy2010p—7809	1.014	1.300	1.590	1.438	1.067	2.251	1.024	1.987	1.075	1.212	1.556	1.481
Zxy2010p—7843	1.053	1.330	1.646	1.353	1.653	1.786	1.299	1.721	1.278	1.599	1.712	1.634
Zxy2010p—7915	1.063	1.505	1.545	1.357	1.657	1.808	1.113	1.620	1.300	1.360	1.674	1.334
Zxy2012p—9004	1.319	1.457	1.792	1.176	1.873	1.399	1.001	1.306	2.066	2.279	2.305	1.716
Zxy2010p—15354	1.103	1.175	1.851	1.698	1.987	2.348	1.299	1.578	1.027	1.178	1.499	1.001
Zxy2010p—15485	1.138	1.432	1.718	1.365	1.037	1.256	1.057	1.211	1.325	1.411	1.506	1.319
Zxy2010p—15549	1.114	1.252	1.686	1.425	1.424	1.561	1.221	1.418	1.036	1.173	1.169	1.000
Zxy2010p—15558	1.063	1.402	1.471	1.116	1.833	2.260	1.311	2.119	1.180	1.260	1.357	1.191
Zxy2010p—15578	1.126	1.388	1.914	1.814	1.049	1.345	1.038	1.100	1.225	1.485	1.521	1.180
CK1	1.076	1.425	1.473	1.357	1.940	2.177	1.748	1.982	1.066	1.125	1.274	1.145
CK2	1.053	1.144	1.474	1.189	1.631	1.956	1.180	1.741	1.318	1.434	1.650	1.421
CK3	1.133	1.966	1.582	1.170	1.421	3.114	1.484	3.079	1.079	1.119	1.249	1.153

表 5 苜蓿幼苗期低温胁迫下综合评价值

Table 5 Comprehensive evaluation value for low temperature stress on alfalfa seedlings

材料	$F_{ij}-W_j$	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	D 值	排序
P1	F_{ij}	0.593	0.393	0.524	0.494	0.209	0.606	0.476	0.599	0.702	0.635	0.525	0.528	1
	W_j	0.119	0.154	0.128	0.206	0.018	0.071	0.057	0.084	0.069	0.050	0.045		
P2	F_{ij}	0.629	0.429	0.560	0.466	0.333	0.573	0.407	0.685	0.742	0.276	0.810	0.519	2
	W_j	0.094	0.096	0.094	0.341	0.052	0.061	0.040	0.085	0.044	0.052	0.041		
P3	F_{ij}	0.584	0.333	0.497	0.509	0.367	0.634	0.430	0.605	0.610	0.389	0.673	0.510	3
	W_j	0.119	0.088	0.111	0.235	0.065	0.072	0.064	0.082	0.044	0.06	0.059		
P4	F_{ij}	0.509	0.339	0.450	0.549	0.449	0.609	0.35	0.571	0.799	0.387	0.571	0.506	4
	W_j	0.125	0.129	0.126	0.171	0.009	0.073	0.059	0.113	0.072	0.071	0.051		
Zxy2010p—15578	F_{ij}	0.536	0.342	0.468	0.422	0.364	0.517	0.361	0.592	0.719	0.485	0.641	0.482	5

176	GRASSLAND AND TURF(2024)											Vol. 44 No. 6		
续表 5														
材料	$F_{ij}-W_j$	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	D 值	排序
Zxy2010p—7715	W_j	0.111	0.111	0.111	0.198	0.058	0.073	0.063	0.098	0.056	0.052	0.069	0.480	6
	F_{ij}	0.595	0.368	0.516	0.449	0.558	0.524	0.328	0.398	0.755	0.329	0.591		
	W_j	0.094	0.101	0.096	0.233	0.042	0.072	0.058	0.116	0.067	0.062	0.061		
Zxy2010p—7657	F_{ij}	0.482	0.302	0.419	0.448	0.260	0.540	0.430	0.539	0.754	0.638	0.625	0.468	7
	W_j	0.117	0.118	0.117	0.194	0.065	0.074	0.073	0.084	0.058	0.049	0.049		
Zxy2010p—7915	F_{ij}	0.487	0.306	0.424	0.431	0.291	0.524	0.502	0.573	0.779	0.389	0.685	0.467	8
	W_j	0.126	0.147	0.132	0.201	0.024	0.067	0.046	0.107	0.050	0.053	0.047		
Zxy2010p—15485	F_{ij}	0.533	0.316	0.457	0.376	0.296	0.573	0.520	0.641	0.790	0.309	0.733	0.464	9
	W_j	0.106	0.122	0.111	0.263	0.066	0.048	0.047	0.083	0.047	0.048	0.058		
Zxy2010p—7481	F_{ij}	0.514	0.325	0.448	0.388	0.671	0.547	0.390	0.472	0.800	0.398	0.468	0.458	10
	W_j	0.109	0.114	0.110	0.219	0.006	0.070	0.068	0.133	0.068	0.060	0.042		
Zxy2010p—7740	F_{ij}	0.545	0.336	0.472	0.390	0.448	0.539	0.345	0.485	0.688	0.410	0.623	0.455	11
	W_j	0.123	0.132	0.125	0.223	0.018	0.077	0.050	0.102	0.028	0.063	0.059		
Zxy2010p—15558	F_{ij}	0.466	0.295	0.406	0.392	0.289	0.596	0.516	0.631	0.798	0.334	0.580	0.452	12
	W_j	0.114	0.107	0.112	0.237	0.074	0.062	0.050	0.091	0.057	0.056	0.040		
Zxy2010p—7097	F_{ij}	0.502	0.331	0.443	0.358	0.314	0.555	0.483	0.510	0.774	0.503	0.417	0.449	13
	W_j	0.125	0.122	0.124	0.223	0.021	0.065	0.060	0.132	0.041	0.049	0.038		
Zxy2010p—7157	F_{ij}	0.374	0.245	0.329	0.477	0.291	0.522	0.347	0.612	0.756	0.383	0.540	0.445	14
	W_j	0.118	0.121	0.118	0.194	0.016	0.073	0.056	0.121	0.064	0.055	0.064		
Zxy2010p—7667	F_{ij}	0.509	0.319	0.443	0.459	0.294	0.542	0.349	0.479	0.581	0.368	0.475	0.442	15
	W_j	0.132	0.160	0.140	0.187	0.025	0.068	0.048	0.070	0.059	0.055	0.056		
CK1	F_{ij}	0.376	0.251	0.332	0.494	0.464	0.641	0.307	0.545	0.751	0.328	0.604	0.440	16
	W_j	0.151	0.122	0.141	0.175	0.036	0.069	0.051	0.094	0.065	0.057	0.039		
Zxy2010p—7451	F_{ij}	0.516	0.312	0.445	0.382	0.619	0.563	0.361	0.458	0.662	0.347	0.483	0.435	17
	W_j	0.101	0.107	0.103	0.250	0.004	0.085	0.062	0.120	0.051	0.071	0.047		
Zxy2010p—15354	F_{ij}	0.38	0.284	0.346	0.387	0.663	0.445	0.579	0.512	0.681	0.340	0.731	0.428	18
	W_j	0.141	0.121	0.135	0.216	0.005	0.055	0.052	0.112	0.065	0.055	0.042		
Zxy2010p—7470	F_{ij}	0.44	0.289	0.388	0.413	0.254	0.552	0.353	0.497	0.794	0.353	0.647	0.425	19
	W_j	0.117	0.11	0.115	0.233	0.034	0.063	0.074	0.108	0.035	0.073	0.037		
Zxy2010p—15549	F_{ij}	0.461	0.295	0.403	0.398	0.243	0.408	0.302	0.444	0.762	0.242	0.548	0.422	20
	W_j	0.105	0.102	0.104	0.190	0.012	0.055	0.046	0.209	0.068	0.057	0.053		
Zxy2010p—7669	F_{ij}	0.408	0.283	0.365	0.438	0.319	0.580	0.373	0.570	0.637	0.344	0.732	0.422	21
	W_j	0.142	0.188	0.155	0.194	0.019	0.048	0.046	0.081	0.029	0.047	0.051		
CK3	F_{ij}	0.402	0.253	0.350	0.436	0.391	0.480	0.359	0.540	0.762	0.355	0.231	0.418	22
	W_j	0.120	0.120	0.120	0.209	0.048	0.069	0.042	0.111	0.067	0.054	0.040		
Zxy2010p—7551	F_{ij}	0.441	0.287	0.387	0.347	0.35	0.511	0.575	0.349	0.629	0.407	0.646	0.417	23
	W_j	0.122	0.122	0.122	0.208	0.010	0.074	0.057	0.114	0.063	0.059	0.049		
Zxy2012p—9004	F_{ij}	0.411	0.307	0.375	0.370	0.526	0.512	0.502	0.446	0.754	0.312	0.619	0.417	24
	W_j	0.141	0.147	0.143	0.201	0.002	0.068	0.061	0.097	0.034	0.051	0.054		
Zxy2010p—7843	F_{ij}	0.409	0.295	0.369	0.395	0.273	0.567	0.279	0.454	0.603	0.465	0.560	0.411	25
	W_j	0.119	0.112	0.117	0.202	0.041	0.072	0.065	0.119	0.049	0.058	0.047		
Zxy2010p—7254	F_{ij}	0.422	0.278	0.372	0.320	0.396	0.480	0.395	0.542	0.515	0.372	0.684	0.403	26
	W_j	0.123	0.117	0.122	0.240	0.028	0.070	0.049	0.116	0.027	0.056	0.051		

续表 5

材料	$F_{ij}-W_j$	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	D 值	排序
Zxy2010p-7765	F_{ij}	0.392	0.266	0.348	0.371	0.312	0.659	0.461	0.513	0.717	0.213	0.465	0.403	27
	W_j	0.129	0.159	0.138	0.197	0.017	0.064	0.055	0.082	0.058	0.057	0.043		
Zxy2008p-5486	F_{ij}	0.337	0.210	0.292	0.470	0.320	0.547	0.354	0.445	0.705	0.190	0.484	0.380	28
	W_j	0.138	0.122	0.133	0.188	0.028	0.072	0.057	0.137	0.039	0.062	0.024		
CK2	F_{ij}	0.386	0.253	0.339	0.397	0.234	0.507	0.243	0.426	0.694	0.164	0.667	0.378	29
	W_j	0.146	0.144	0.145	0.183	0.020	0.067	0.047	0.094	0.049	0.060	0.044		
Zxy2010p-7809	F_{ij}	0.327	0.211	0.286	0.462	0.373	0.463	0.313	0.473	0.640	0.398	0.463	0.372	30
	W_j	0.136	0.174	0.147	0.163	0.022	0.064	0.048	0.088	0.054	0.054	0.051		

注:A1 叶绿素 a,A2 叶绿素 b,A3 叶绿素,A4 相对电导率,A5 脯氨酸,A6 可溶性蛋白,A7 可溶性糖,A8 丙二醛,A9 过氧化物酶,A10 超氧化物歧化酶,A11 过氧化氢酶。

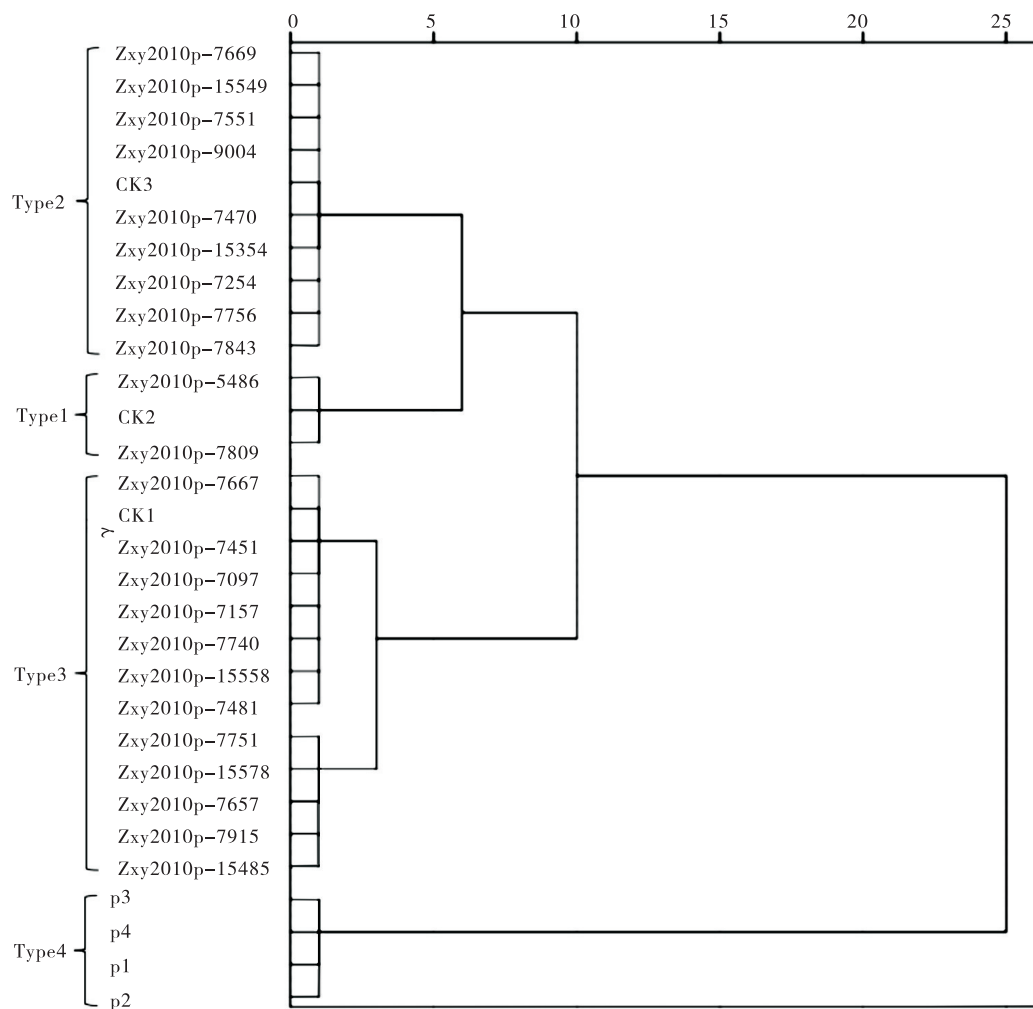


图 1 苜蓿种质耐低温聚类图

Fig. 1 The cluster of low temperature stress of tested alfalfa

注:Type1 低温敏感型,Type2 低温较敏感型,Type3 较耐低温型;Type4 耐低温型。

2.7 主成分分析

为简化指标及浓缩数据,30 份供试苜蓿材料各种质指标的耐低温系数为基础进行主成分分析(表 6),累计贡献率为 78.909%,第 1 主成分的特征值为

3.610,贡献率为 32.734%,对应较大的特征向量是叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总浓度。第 2 主成分的特征值为 1.632,贡献率为 14.833%,对应较大的特征向量是相对电导率。第 3 主成分的特征值为 1.229,贡献率为

11.175%,对应较大的特征向量是脯氨酸、可溶性糖、过氧化物酶。第4主成分的特征值为1.175,贡献率为10.685%,对应较大的特征向量是丙二醛。第5主成分的特征值为1.043,贡献率为9.482%,对应较大的特征向量是脯氨酸。

2.8 苜蓿耐低温性鉴定指标的筛选

以综合评价D值为因变量,以11项指标的隶属值为自变量,进行回归分析,建立的最优回归方程为:

$$Y=0.255+0.013X_1-0.223 X_2-0.001 X_3+0.001X_4+0.014X_5(R^2=0.952)$$

式中: X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 分别代表叶绿素b、脯氨酸、过氧化物酶、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶。由此可见,11项指标中这5个指标对不同苜蓿材料耐低温性的筛选具有指导作用。

3 讨论

低温胁迫下,植物生理生化特性受到不同程度的影响^[23]。低温引起的光合速率下降同时伴有气孔导度的下降,导致叶绿素下降^[24-25]。本研究也有类似结果,随低温胁迫时间加长叶绿素含量逐渐降低,抗寒性较强的材料始终保持较高的叶绿素含量。说明随胁迫加剧,抗寒性较强的材料叶绿体结构受损较轻,叶绿体合成酶活性较高,这与邵美妮等^[26]研究结果一致。相对电导率能反映植物在逆境条件下膜透性的变化情况,低温胁迫下一些不饱和脂肪酸能氧化降

解,部分胞内离子流向胞外,导致组织液浓度增加,相对电导率也随之增加。本研究中,低温胁迫下,供试苜蓿相对电导率均呈不同程度的增加,这与其美拉姆等^[27]、李素丽等^[28]在低温胁迫对披碱草(*Elymus dahuricus*)、甘蔗研究结果相同。低温胁迫下植物可积累Pro、SS、SP等渗透调节物质^[29]。本研究中,Pro、SS、SP含量随低温胁迫时间增加均先升高后降低且胁迫6h时含量达到最高,抗寒性强的P1始终有较高Pro、SS、SP含量,这与夏全超等^[30]对苜蓿根茎抗寒性研究结果一致。在低温胁迫0~6h时,苜蓿体内渗透压调节机制受外界刺激,积累大量的渗透调节物质,提高细胞质冰点,增加原生质体保护能力,降低低温造成的损害。当胁迫时间加长时,防御机制受到损害,叶片渗透调节物质含量开始下降,各试验材料表现出不同的抗寒能力^[31]。

低温胁迫抑制了植物体内碳同化和电子传递,细胞膜过氧化,植物体内细胞膜透性增大,MDA积累量升高,通过过氧化物酶加强抗氧化作用,提高对逆境的抗性,其中SOD、POD和CAT是主要的抗氧化酶^[32]。在本研究中,低温胁迫下,MDA含量、SOD、POD与CAT活性高于对照组且MDA含量呈递增趋势,POD、CAT活性呈先升后降趋势,这与钟海霞等^[33]、梁坤伦等^[34]研究结果一致,这是因为低温胁迫破坏了植物正常的氧化代谢,活性氧产生过快导致积累,抗

表 6 各因子载荷矩阵和累计贡献率
Table 6 Matrix of factor loading and cumulative contribution rate

指标	主成分				
	1	2	3	4	5
叶绿素 a	0.927	0.123	-0.006	0.116	0.164
叶绿素 b	0.885	0.180	-0.042	0.059	0.094
叶绿素总浓度	0.948	0.143	-0.016	0.103	0.149
电导率	-0.355	0.773	0.150	-0.026	-0.215
脯氨酸	-0.068	0.263	0.534	0.208	0.636
可溶性蛋白	0.382	-0.412	0.017	0.489	-0.087
可溶性糖	0.337	0.436	0.502	-0.280	-0.385
丙二醛	-0.525	0.389	0.067	0.543	0.168
过氧化物酶	0.106	-0.457	0.598	-0.480	0.197
超氧化物歧化酶	0.455	-0.062	0.303	0.336	-0.537
过氧化氢酶	0.420	0.415	-0.463	-0.385	0.154
特征值	3.601	1.632	1.229	1.175	1.043
贡献率/%	32.734	14.833	11.175	10.685	9.482
累计贡献率/%	32.734	47.567	58.742	69.427	78.909

氧化酶活性因而增强。随胁迫时间延长,植物体内MDA含量持续上升,高浓度MDA对植物细胞造成破坏^[35],保护酶系统清除活性氧的能力降低,其酶活性开始下降。由此说明在轻度胁迫下,苜蓿可以通过抗氧化酶的作用,维持细胞膜透性,避免膜脂氧化损伤,但随着胁迫程度的加剧,抗氧化酶活性会下降。

4 结论

本研究对30份供试苜蓿进行耐低温性评价及筛选。根据隶属函数及客观赋权法综合评价表明,苜蓿新品系P1、P2、P3耐低温性强,材料Zxy2010p-7809最弱。低温胁迫下,叶绿素b、脯氨酸含量、过氧化物酶、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶活性可用于苜蓿耐低温性的评价鉴定的重要指标。研究结果为苜蓿耐低温评价、培育耐低温新品种提供了理论依据和种质资源。

参考文献:

- [1] 权威,薛文通,赵天瑶,等. 植物对低温胁迫的响应机制研究进展[J]. 中国农业大学学报,2023,28(2):14-22.
- [2] 陈思琪,孙敬爽,麻文俊,等. 植物低温胁迫调控机制研究进展[J]. 中国农学通报,2022,38(17):51-61.
- [3] Biyan Z, Zhenfei G, Zhiling L. Effects of abscisic acid on antioxidant systems of (Aublet) Sw. under chilling stress [J]. Crop Sci,2005,45(2):599-605.
- [4] 赵一航,孟令东,张晓萌,等. 4个紫花苜蓿品种对低温胁迫的生理响应及抗寒性评价[J]. 草业科学,2021,38(4):683-692.
- [5] 马周文,秘一先,鲁学思,等. 低温胁迫对紫花苜蓿生理指标的影响[J]. 草原与草坪,2016,36(6):60-67.
- [6] 王磊,李建勇,张振贤,等. 冻害低温下越冬甘蓝渗透调节物质的变化和作用[J]. 山东农业大学学报(自然科学版),2001,32(4):484-490.
- [7] 南丽丽,师尚礼,陈建纲,等. 不同根型苜蓿根系对低温胁迫的响应及其抗寒性评价[J]. 中国生态农业学报,2011,19(3):619-625.
- [8] 李瑞雪,金晓玲,胡希军,等. 低温胁迫下6种木兰科植物的生理响应及抗寒相关基因差异表达[J]. 生态学报,2019,39(8):2883-2898.
- [9] 梁坤伦,贾存智,孙金豪,等. 高寒地区垂穗披碱草种质对低温胁迫的生理响应及其耐寒性评价[J]. 草业学报,2019,28(3):111-121.
- [10] Ploschuk E L, Bado L A, Salinas M, *et al.* Photosynthesis and fluorescence responses of *Jatropha curcas* to chilling and freezing stress during early vegetative stages[J]. Environ. Exp. Bot,2014,102:18-26.
- [11] 苏向辉,秦伟,刘立强,等. 低温胁迫对李属4种砧木几个抗寒指标的影响[J]. 新疆农业大学学报,2012,35(2):112-115.
- [12] 李元梅,姚金晓,朱田香. 茄子幼苗耐低温生理指标的影响[J]. 浙江农业科学,2023,64(2):337-339.
- [13] 全怡吉,樊仙,李如丹,等. 不同甘蔗品种对低温胁迫的生理响应及耐寒性综合评价[J]. 热带作物学报,2020,41(1):63-68.
- [14] 李永,王帆,王淑晨,等. 低温胁迫对连翘幼苗叶片生理特性的影响[J]. 植物科学学报,2023,41(1):102-111.
- [15] Amin B, Atif M J, Wang X, *et al.* Effect of Low Temperature and High Humidity Stress on Physiology of Cucumber at Different Leaf Stages[J]. Plant Biology,2021,23(5):785-796.
- [16] Huang C, Qin N, Sun L, *et al.* Selenium Improves Physiological Parameters and Alleviates Oxidative Stress in Strawberry Seedlings under Low-Temperature Stress [J]. International Journal of Molecular Biology,2018,19(7):1913.
- [17] 汪堃,南丽丽,郭全恩,等. 干旱胁迫对不同根型苜蓿根系构型的影响[J]. 生态学报,2022,42(20):8365-8373.
- [18] 全国畜牧总站. 中国草业统计2020[M]. 北京:中国农业出版社,2022:70-71.
- [19] 陈卫东,张玉霞,丛百明,等. 低温胁迫对不同苜蓿品种生理特性的影响[J]. 中国草地学报,2021,43(7):115-120.
- [20] 邓雪柯,乔代蓉,李良,等. 低温胁迫对紫花苜蓿生理特性影响的研究[J]. 四川大学学报,2005,42(1):190-194.
- [21] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,2003:110-174.
- [22] 陈洁,魏少萍,梁鹏飞,等. 不同红豆草材料耐低磷性评价及种质筛选[J]. 中国草地学报,2022,44(3):72-80.
- [23] 李波,李晨阳,李红,等. 短期低温胁迫对‘龙牧807’苜蓿幼苗生理代谢的影响[J]. 草地学报,2021,29(3):515-521.
- [24] 王瑞霞,闫长生,张秀英,等. 春季低温对小麦产量和光合特性的影响[J]. 作物学报,2018,44(2):288-296.
- [25] Zhifeng D, Yonghua M, Zhiming L, *et al.* Chlorophyll

- fluorescence imaging as a tool for analyzing the effect of chilling injury on tomato seedlings[J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 246: 490—497.
- [26] 邵美妮,郝鑫,崔娜,等. 蓝叶类型玉簪叶片表皮蜡质对光合生理的影响[J]. *园艺学报*, 2020, 47(7): 1401—1411.
- [27] 其美拉姆,普布卓玛,崔彤彤,等. 外源钙对低温胁迫下西藏野生垂穗披碱草生理及相关基因表达的影响[J]. *草地学报*, 2021, 29(5): 919—928.
- [28] 李素丽,李志刚,杨丽涛,等. 低温对不同冷敏感型甘蔗品种根系一些生理指标的影响[J]. *华南农业大学学报*, 2012, 33(2): 178—182.
- [29] 陈卫东,张玉霞,丛百明,等. 低温胁迫对不同苜蓿品种生理特性的影响[J]. *中国草地学报*, 2021, 43(7): 115—120.
- [30] 夏全超,张玉霞,孙明雪,等. 磷肥下移深度对苜蓿根颈含氮保护物质及其抗寒性的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2022, 40(2): 96—101.
- [31] 张亚玲,辛宏伟,郭宁,等. 羽衣甘南抗寒生理特性研究[J]. *华北农学报*, 2016, 31(4): 168—176.
- [32] 魏文婧,贾凯跃,王妩红,等. 不同春甘蓝品种耐低温性综合评价[J/OL]. *分子植物育种*: 1—13 [2023-03-31].
- [33] 钟海霞,潘明启,张付春,等. 葡萄砧木枝条的抗寒性比较[J]. *新疆农业科学*, 2016, 53(2): 261—269.
- [34] 梁坤伦,贾存智,孙金豪,等. 高寒地区垂穗披碱草种质对低温胁迫的生理响应及其耐寒性评价[J]. *草业学报*, 2019, 28(3): 111—121.
- [35] 何子华,杨成行,王沛,等. 高寒地区6种禾本科牧草对低温胁迫的生理响应及耐寒性评价[J]. *草业科学*, 2021, 38(10): 2019—2028.

Physiological response and cold tolerance evaluation of 30 alfalfa germplasm to low temperature stress

MA Biao, NAN Li-li*, WANG Kun, YAO Yu-heng, CHEN Jie, XIA Jing

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

Abstract: 【Objective】 The aim of the study is to screen and evaluate low temperature tolerant alfalfa germplasm. 【Method】 30 alfalfa germplasm growing for 30 days at home and abroad were treated with low temperature stress by nutrient solution sand culture method. The physiological indexes of alfalfa were measured at -7°C after 2 h, 4 h, 6 h and 8 h treatment. 【Result】 With the extension of low temperature stress time, the contents of chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll decreased by 6.1%~71.10%, 6.61%~63.01% and 6.18%~69.03% compared with the control, respectively. The electrical conductivity and malondialdehyde content increased. Compared with the control, the contents of proline, soluble sugar and soluble protein and the activities of peroxidase and catalase first increased and then decreased, and increased to the maximum under low temperature stress for 6 h. The activity of superoxide dismutants increased first, then decreased and then increased again, with the highest increase at 4 h and the lowest increase at 6 h. 【Conclusion】 The 30 alfalfa can be divided into 4 categories by the comprehensive evaluation of membership function, among which the new strains P1, P2, P3 and P4 have good low temperature tolerance, and can be used for the breeding of new alfalfa varieties with low temperature tolerance.

Key words: alfalfa; low temperature stress; physiological characteristics; comprehensive evaluation

(责任编辑:刘建荣)