

10份藏沙蒿种质材料的耐寒性评价

张晓¹, 刘欢^{1*}, 王敬龙², 仁增旺堆², 王绮玉¹

(1. 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; 2. 西藏自治区农牧科学院草业科学研究所, 西藏 拉萨 850000)

摘要:【目的】评价10份藏沙蒿(*Artemisia wellbyi*)种质的耐寒性差异。【方法】以10份不同海拔生境的藏沙蒿种质为试验材料,在20℃(对照)、16℃、12℃和8℃低温光照培养箱中进行萌芽试验,测定不同温度下的种子发芽势、发芽率、根长、芽长等指标,在20℃(对照)和4℃低温下测定苗期的逆境生理指标,采用主成分分析和隶属函数相结合的方法对10份藏沙蒿种质进行耐低温能力的综合评价。【结果】随着温度的降低,10份藏沙蒿的发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数、胚根长、胚芽长均低于对照,并且种子的耐低温能力存在显著差异;在低温胁迫下超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性和可溶性蛋白(SP)、可溶性糖(SS)含量均增加,脯氨酸(Pro)含量和过氧化物酶(POD)活性不同材料之间存在一定差异性($P<0.05$)。【结论】采用隶属函数法对主成分筛选的7个指标的综合评价结果表明,2号藏沙蒿种质耐寒性较强,37号藏沙蒿种质材料耐寒性较弱。

关键词:藏沙蒿;耐寒性;主成分分析;隶属函数法;综合评价

中图分类号:S812 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2024)06-0249-11

DOI:10.13817/j.cnki.cyyep.2024.06.028



西藏位于青藏高原西南部,平均海拔在4 000 m以上,高寒缺氧,气候恶劣,有“世界屋脊”和地球“第三极”之称,在亚洲乃至全球都具有非常重要的生态地位^[1],其地势高峻、东西和南北跨度大、气候和生态类型独特、植物资源丰富而独特^[2-3],全区草地总面积8 800万 hm^2 ^[4-5],位居全国之首,但是青藏高原独特的气候环境对西藏草地具有广泛而深刻的影响,西藏草地被寒冷低温气候控制的面积达74.9%,这些草地所在区域的年平均气温在0℃左右, $\geq 0^\circ\text{C}$ 的年积温小于

1 500℃,植物生长期不超过180 d^[6],在这样的环境气候条件下,西藏牧草的种植主要以耐逆性较强的禾本科牧草为主,造成了西藏牧草种植品种单一、产量低的问题^[7]。

藏沙蒿(*Artemisia wellbyi*)为菊科(Compositae)蒿属(*Artemisia*)半灌木状草本,主要分布在西藏北部和西北部地区,其生境多为河滩、草坡和流石滩,是西藏特有植物种,其营养品质较高,粗蛋白、粗脂肪含量高于草地中其他草本植物^[8],也常常作为牧草饲料,在群落中为建群种或优势种,具耐寒、耐旱和防风固沙等重要生态功能^[2]。在西藏高寒干旱生境下,藏沙蒿形成了其独有特征和适应机制,对低温具有极强的耐性,因此,开展藏沙蒿种质材料耐寒性筛选、鉴定是藏沙蒿在西藏的推广种植和高效生产的基础。

植物耐寒性受多种因素影响,以单一指标评价具有一定的片面性,需用多个指标进行综合评价^[9-10]。目前,有关藏沙蒿的研究主要集中于资源调查^[2]、营养成分分析^[12]和与其他植物的竞争效应^[13]等方面,对藏

收稿日期:2023-03-17; **修回日期:**2023-06-18

基金资助:西藏自治区重点研发及转化计划(XZ201902 NB01); 西藏自治区科技计划项目(XZ202201 ZY0014 N); 甘肃省自然科学基金(21JR7RA824); 草业生态系统教育部重点实验室开放课题(KLGE-2022-16)。

作者简介:张晓(1998-),女,甘肃武威人,硕士研究生。

E-mail:1712474478@qq.com

*通信作者。E-mail:liuhuan@gsau.edu.cn

沙蒿耐寒性综合评价还未见报道。种子萌发是植物生长发育的初始阶段,也是最脆弱的一个阶段,对种植环境十分敏感,受到众多因素的影响,其中温度是关键因素。苗期作为植物对温度变化最敏感的时期,对于鉴定植物的耐寒能力具有时间短、结果准确、可重复性强等优点,在植物耐寒性评价中应用广泛^[14-15]。基于此,本研究以采自西藏地区不同生境的藏沙蒿种质材料为研究对象,对10份材料的12个耐寒指标进行综合评价,筛选耐寒型和低温敏感型种质

材料,以期为西藏野生菊科牧草种质资源的开发利用和藏沙蒿在高寒地区的推广种植提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试的藏沙蒿种质材料共10份(表1),为由西藏自治区农牧科学院研究所协助采集的藏沙蒿成熟种子,以室温状态储存在甘肃农业大学草业学院实验室。

表1 藏沙蒿种质资源表
Table 1 The Germplasm resources of *A. wellbyi*

种质编号	采集地	经度	纬度	海拔/m	生境
1	山南市贡嘎县杰德秀镇	91°4' E	29°17' N	3 569	河滩
2	日喀则市康马县嘎啦乡	89°23' E	29°15' N	4 490	河谷沙地
3	林芝市朗县	93°0' E	29°30' N	3 070	河滩
12	山南市乃东区	91°50' E	29°17' N	3 555	河滩
25	山南市扎囊县朗赛林乡	91°31' E	29°15' N	3 577	流石滩
33	日喀则市桑孜珠区年木乡	89°29' E	29°19' N	3 806	沙丘地
34	日喀则市萨迦县吉定镇	88°18' E	29. 12' N	3 957	河谷沙地
35	日喀则市拉孜县彭措林乡	88°18' E	29°12' N	3 948	流石滩
36	日喀则市昂仁县多白乡	86°58' E	29°19' N	4 490	流石滩
37	日喀则市昂仁县南玛村	87°21' E	29°12' N	4 585	流石滩

1.2 试验设计

1.2.1 预实验 为了确定低温胁迫的温度范围,将供试10份藏沙蒿种质材料于光照培养箱中进行预试验,分别设置温度为-4、0、4、8、12和20℃(CK)共6个处理,每个处理3次重复。结果表明:当温度为-4、0和4℃时,10份供试藏沙蒿种质材料发芽指标值均为0,最终选定低温胁迫温度为8、12、16℃。

1.2.2 低温胁迫对野生藏沙蒿种子萌发特性影响试验设计 发芽试验参照《国际种子检验规程》^[16]。试验于2021年10月在甘肃农业大学草业学院实验室内进行,采用培养箱温度控制法进行试验。试验前挑选颗粒饱满、大小一致、有活力的藏沙蒿种子,将种子分别放置于铺有两层滤纸的培养皿内,置于低温培养箱中进行种子萌发试验。培养箱温度分别设为20℃(对照)、16、12和8℃。设置光照12 h,黑暗12 h,全天湿度为25%,每组处理3次重复,每个重复40粒种子。发芽期间每天观察并补充适量蒸馏水,保持滤纸湿润,使其含水量保持在测定范围以内。种子放入低温

培养箱24 h后开始每天观察记录种子发芽数,以胚根长度达到种子长一半作为种子发芽的标志,及时除去发霉种子,每天测定试验数据并准确记录。

1.2.3 藏沙蒿苗期耐寒性试验设计 试验在甘肃农业大学草业学院实验室内进行,试验采用盆栽法育苗。

将10份藏沙蒿种质分别均匀撒播于装有等量经高温灭菌的蛭石和沙子与营养土(1:1:2混合)的塑料花盆(底径5 cm、口径7 cm、深8 cm)中,土壤中全氮为2.34 g/kg,全钾为3.44 g/kg,全磷为0.29 g/kg,有效钾为202.30 g/kg,有效磷为17.19 g/kg,用环刀法测得土壤的田间持水量为29.6%,每盆装土1 kg,置于人工智能温室中发芽。待藏沙蒿幼苗真叶长出2片后间苗,每盆根据试验设计留长势基本一致的幼苗,每盆20株。试验期间保持土壤湿润,每隔7 d对供试花盆的位置进行随机调换,避免由光照、温度等因素造成的误差。温室温度为(25±2)℃,光照16 h,黑暗

8 h, 光强约 600 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 相对湿度 60%。

待盆内藏沙蒿幼苗长到 10 cm, 间苗, 每盆留有长势一致的幼苗 10 株, 将各处理组放入低温培养箱进行低温胁迫处理, 设置低温培养箱温度为 20 $^{\circ}\text{C}$ (对照) 和 4 $^{\circ}\text{C}$, 设置光照 12 h, 黑暗 12 h, 全天湿度为 75%。

7 d 后进行叶片采样, 取整片叶片, 用锡箔纸包装和标记后, 迅速放入液氮中冷冻处理, 之后放入自封袋中 (每组一袋), 于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冻存, 用于生理指标的测定。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 萌发期指标 种子发芽率 (GR) = $(n/N) \times 100\%$, 其中 n 为最终正常发芽的种子数, N 为试供种子数;

发芽势 (GF) = 发芽高峰期种子的发芽数 / 供试种子总数 $\times 100\%$;

发芽指数 (GI) = $\sum (G_t/D_t)$

式中: G_t 为第 t 日的发芽数; D_t 为相应发芽天数;

活力指数 (VI) = $\text{GI} \times S$

式中: S 为平均芽长。

胚根和胚芽长及鲜重的测定: 发芽试验结束时从每个处理的培养皿内随机取 10 个正常生长的幼苗用直尺测量胚芽和胚根的长度并称取其鲜重, 不够 10 株的全部都测。

1.3.2 生理指标 过氧化物酶 (peroxidase, POD) 活性采用愈创木酚法测定^[17]; 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性采用氮蓝四唑还原法测定^[17]; 过氧化氢酶 (catalase, CAT) 活性采用高锰酸钾滴定法测定^[17]; 可溶性糖 (soluble sugar, SS) 含量采用蒽酮法测定^[18]; 可溶性蛋白 (soluble protein, SP) 含量采用考马斯亮蓝 G-250 测定^[18]; 脯氨酸 (proline, Pro) 含量采用茚三酮比色法测定^[18]。

1.4 数据分析

采用 Microsoft Excel 2010 进行数据整理, SPSS 25.0 软件进行方差分析。耐寒性指标筛选采用主成分分析 (PCA), Origin 2021 软件作图。耐寒性综合评价采用隶属函数法, 求出每个藏沙蒿种质材料各耐寒指标在不同温度下的隶属值 $X(\mu)$ ^[19-20]:

$$X(\mu) = (X - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$$

式中: X 为藏沙蒿种质材料某一指标的测定值, $X_{\max}$ 和 $X_{\min}$ 分别为测定值的最大值及最小值。如果某

一指标与耐性指标呈负相关, 则可以通过反隶属函数计算其隶属函数值 $X(\mu)$:

$$X(\mu) = 1 - (X - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$$

把各指标在不同温度下的隶属值累加求平均值, 最后再将每一种质材料各项耐寒指标的隶属值累加求平均值, 最终平均值越大, 则耐寒性越强。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫对藏沙蒿种子起始发芽天数的影响

低温胁迫对藏沙蒿种子起始发芽天数有明显的延迟作用。随着温度的降低, 对藏沙蒿种子萌发延迟的作用愈加明显 (表 2)。20 $^{\circ}\text{C}$ 条件下, 10 份藏沙蒿种子在第 2~3 d 开始萌发。相较于不同种质, 12 $^{\circ}\text{C}$ 对 3 号种质材料的延迟作用最为明显; 相较于不同温度, 8 $^{\circ}\text{C}$ 对种子萌发影响最明显。

表 2 不同温度下藏沙蒿种子的起始发芽天数

Table 2 Initial germination days (d) of *Artemisia wellbyi* seeds at different temperatures

种质编号	第一粒种子萌发时间/d			
	CK	16 $^{\circ}\text{C}$	12 $^{\circ}\text{C}$	8 $^{\circ}\text{C}$
1	3	5	6	未发芽
2	2	4	5	9
3	3	5	9	未发芽
12	2	4	6	未发芽
25	2	5	6	未发芽
33	2	4	5	未发芽
34	2	4	6	12
35	3	3	4	13
36	2	4	5	13
37	3	5	6	13

2.2 低温胁迫对种子萌发特性的影响

各个种质在不同温度下的发芽率存在差异, 随着温度的降低, 各个品种的发芽率大致呈现下降的趋势且差异显著 (图 1-A)。在常温条件下, 10 份藏沙蒿种质的发芽率为 60%~99%, 说明在自然状态下, 藏沙蒿的种子质量相对较好; 在 8 $^{\circ}\text{C}$ 下, 有 5 个材料萌发, 有 5 个材料没有萌发, 8 $^{\circ}\text{C}$ 与对照相比差异最显著, 说明种子对 8 $^{\circ}\text{C}$ 低温敏感。从发芽率来看, 2 号种子在不同温度下的发芽率最高, 分别为 99.17%、97.50%、86.67%、52.50%, 说明 2 号种子耐寒性最强。

2 号种子的发芽势最高, 分别为 72.5%、58.33%、

61.67%、10.83%，说明种子的活力最强，35号次之(图1-B)。随着温度的降低，种子的发芽势大致呈现降低的趋势，说明低温抑制了大部分种子的活力，尤其8℃下，种子的活力下降尤为明显，但1号和34号种质材料在16℃下的发芽势与对照相比有上升趋势且差异显著，说明16℃低温增强了它们的种子活力。

2号种子的发芽指数高于其他种质，表明2号的种

子萌发速度快而整齐(图2-A)。与对照相比，低温处理下的发芽指数降低，表明低温胁迫对各材料种子发芽具有一定的抑制作用。

34号种质材料在16℃下的活力指数与对照相比从9.93上升到17.74，说明34号种质在16℃下的活力指数最强(图2-B)。其余种质材料随着温度降低，活力指数均下降。

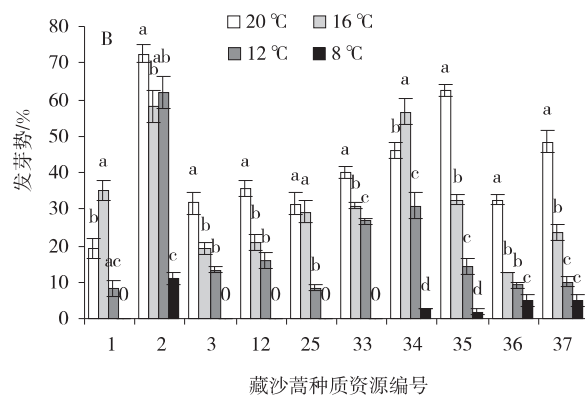
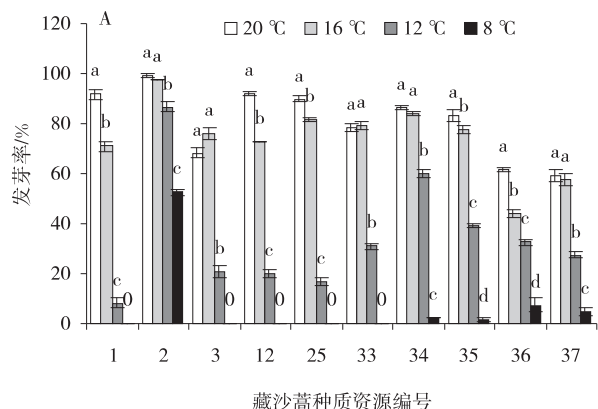


图1 不同温度下藏沙蒿种质的发芽率和发芽势

Fig. 1 Germination rate and germination potential of *Artemisia wellbyi* seeds at different temperatures

注:图中不同小写字母表示在0.05水平下同一种质不同温度处理间差异显著,下同。

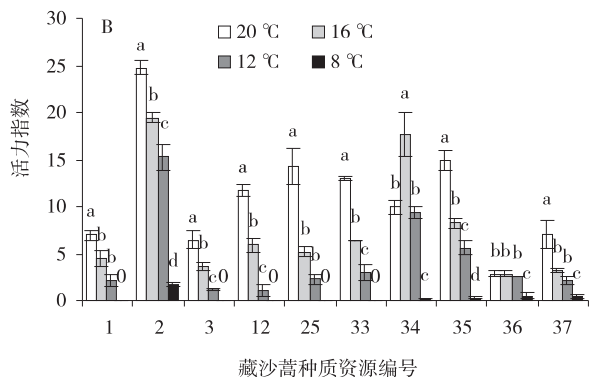
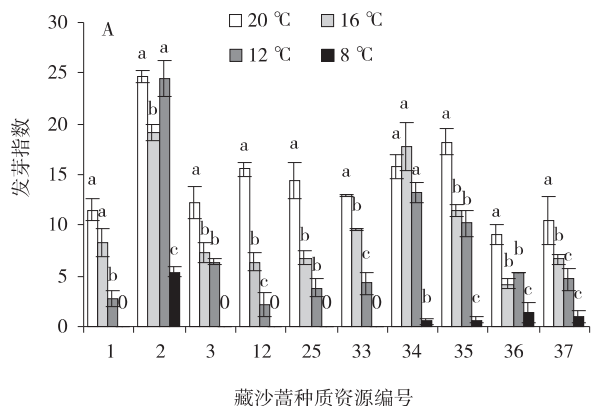


图2 不同温度下藏沙蒿种质的发芽指数

Fig. 2 Germination index and seed vigor index of *Artemisia wellbyi* seeds at different temperatures

低温胁迫对各藏沙蒿种质胚根和胚芽的生长具有不同程度的抑制作用(图3)。10份藏沙蒿种质CK的根长分别为0.946、2.140、0.750、1.180、0.950、0.870、0.731、0.700、0.756、0.550 cm,在12℃低温胁迫下,各藏沙蒿的根长分别为0.635、2.000、0.260、0.820、0.652、0.550、0.550、0.300、0.540、0.300 cm,在8℃低温胁迫下,仅有2、36、37号生根,根长分别为0.474、0.100、0.200 cm(图3-A);各藏沙蒿种质的芽长随温度降低而减小(图3-B)。

2.3 低温胁迫对藏沙蒿种质苗期渗透调节物质的影响

随温度的下降,藏沙蒿种质可溶性糖含量(图4-A)、可溶性蛋白含量(图4-B)整体呈现上升趋势,25号种质的可溶性糖含量相比于其他材料增幅最大,是对照的1.67倍,36号种质增加最缓慢,仅为对照的1.2倍,在低温胁迫下,种质2、25、35、37号可溶性糖含量增加幅度最大,36号种质的可溶性糖含量增加幅度缓慢,说明其耐寒性可能较弱;

在20℃温度条件下,大部分试验材料的可溶性

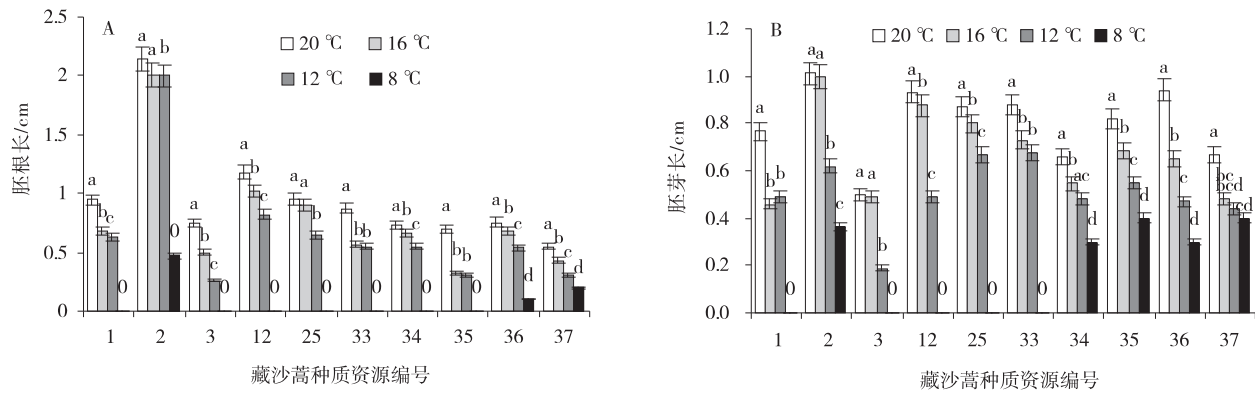


图3 不同温度下藏沙蒿种质的胚根长和胚芽长

Fig. 3 Seed radicle length and seed germ length of *Artemisia wellbyi* seeds at different temperatures

蛋白含量为1.1~2.5 mg/g,低温胁迫下,所有供试的藏沙蒿种质材料的可溶性蛋白含量均增加,其中1、2、25号种质增加幅度较大,37、33号种质的增加幅度较小。

在低温胁迫下藏沙蒿种质脯氨酸含量较对照相比大多数有所提高,但少数降低,其中2、25、33号种质材料较对照脯氨酸含量增幅较大,分别为141.23、156.86、111.21 $\mu\text{g/g}$;3、12、37号种质材料脯氨酸含量较对照呈下降趋势,分别下降120.54、30.12、80.83 $\mu\text{g/g}$,不同低温胁迫下藏沙蒿种质幼苗叶片中脯氨酸含量差异显著($P<0.05$)(图5-A)。

2.4 低温胁迫对藏沙蒿种质耐氧化酶活性的影响

10份藏沙蒿种质材料的SOD酶活性在低温胁迫

下呈现升高趋势(图5-B)。大多数种质在低温下SOD活性增加明显,37号材料SOD活性增加较少,说明低温胁迫下这个材料的耐寒能力较弱。

在低温胁迫条件下,大部分藏沙蒿种质材料的POD活性呈现下降趋势(图6-A),说明在低温胁迫下,这些藏沙蒿种质不能够通过积累POD活性来消除低温胁迫对植物的伤害。

在低温胁迫下除25、35号藏沙蒿种质之外,其余8份藏沙蒿种质的CAT活性在低温胁迫下呈现升高趋势(图6-B)。其中,1、2、34号种质的CAT活性升高幅度较大,较对照分别提高了1.72倍、2.29倍、1.58倍,说明在低温胁迫下,这些材料通过积累CAT含量消除低温胁迫下活性氧对细胞膜的损伤。

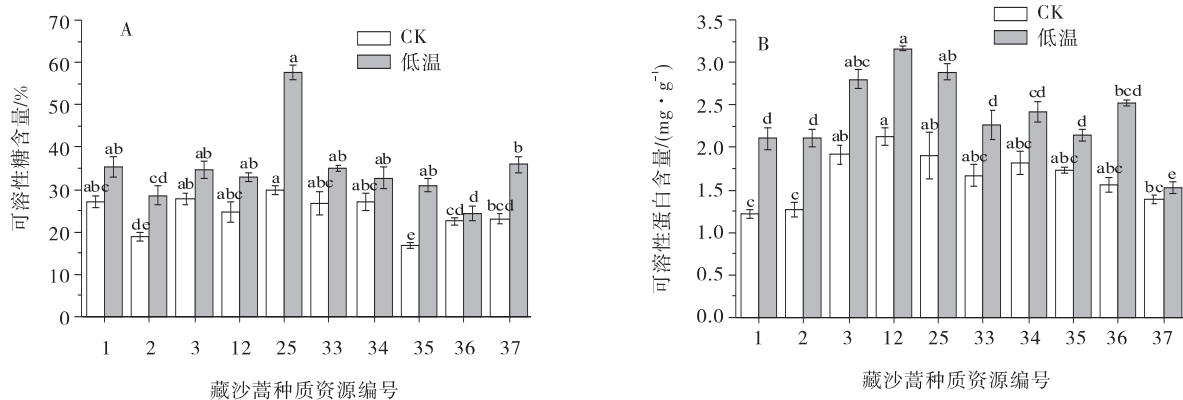


图4 低温胁迫下藏沙蒿种质的可溶性蛋白质含量和可溶性糖含量

Fig. 4 Soluble protein content and soluble sugar content of *Artemisia wellbyi* seeds under low temperature stress

2.4 藏沙蒿各种质材料单项指标的主成分分析

对10份藏沙蒿种质材料的12项观测指标进行主成分分析(表3),前4个成分的累计贡献率达到90.39%,其特征根 $\lambda>1$ (表4),具有较好的代表性,可作为藏沙蒿耐寒性评价的综合指标。第1个主成分中

载荷较大的是活力指数和发芽指数,载荷数分别为0.916和0.874,其特征向量反映了种子的萌发特性,且藏沙蒿种质耐寒性与其发芽特性呈正相关。第2个主成分中载荷最大的是脯氨酸和可溶性糖,载荷数都为0.975,其特征向量反映了低温胁迫下藏沙蒿幼苗

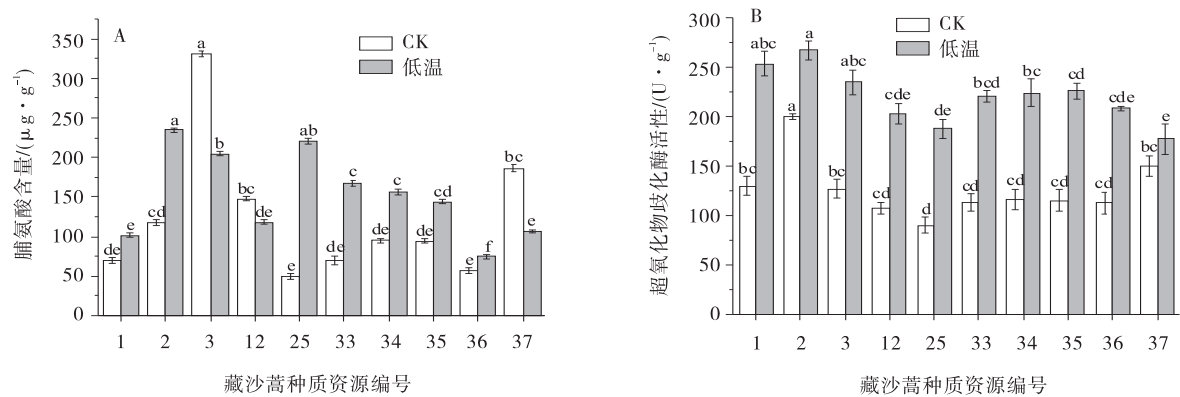


图5 低温胁迫下藏沙蒿种质的脯氨酸含量和超氧化物歧化酶活性

Fig. 5 Proline content and superoxide dismutase activity of *Artemisia wellbyi* seeds under low temperature stress

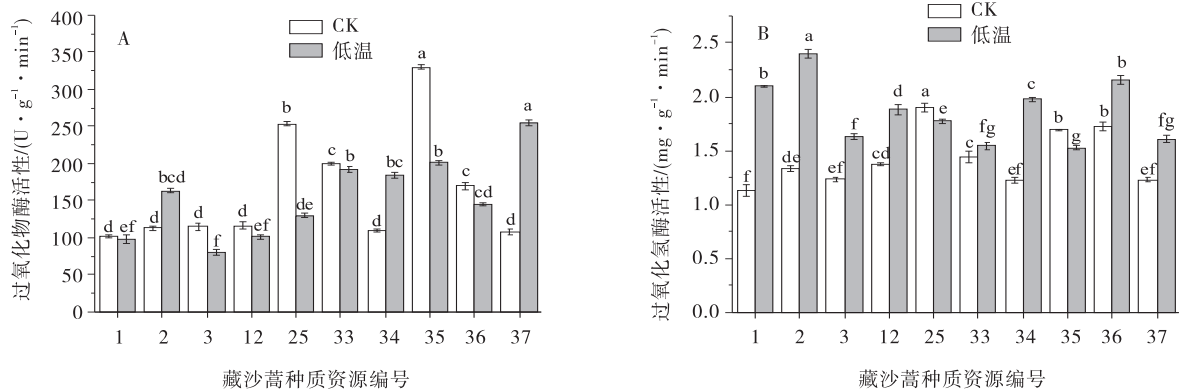


图6 低温胁迫下藏沙蒿种质的过氧化物酶活性和过氧化氢酶活性

Fig. 6 Peroxidase and catalase activities of *Artemisia wellbyi* seeds under low temperature stress

的细胞渗透调节能力,其渗透调节能力越强,藏沙蒿受到的损害就越小。第3个主成分对应特征向量中载荷较大的是可溶性蛋白和芽长,载荷数分别为0.787和0.681。第4个主成分对应特征向量中载荷最大的是过氧化物酶,载荷数为0.835。第3和第4主成分的特征向量反映了藏沙蒿幼苗的渗透调节特性,萌发特

性和耐氧化酶活性,说明藏沙蒿幼苗的耐寒性与渗透调节特性,萌发特性和耐氧化酶活性密切相关。综合来看,藏沙蒿的萌发特性、耐氧化酶活性以及渗透调节物质可作为藏沙蒿耐寒性评价的综合指标,并且以上7项指标可作为藏沙蒿种质材料耐寒性综合评价的主要指标。

表3 各因子载荷矩阵

Table 3 Loading matrix of each component

测定指标	主成分			
	I	II	III	IV
发芽率	0.864	0.159	0.028	0.365
发芽势	0.709	0.323	0.024	-0.387
发芽指数	0.874	0.278	-0.024	0.315
活力指数	0.916	-0.029	0.238	0.044
根长	0.713	-0.209	0.43	-0.296
芽长	0.474	-0.367	0.681	-0.123
脯氨酸含量	-0.091	0.975	0.062	0.105
SS含量	-0.091	0.975	0.062	0.105
SP含量	-0.461	0.248	0.787	-0.04
CAT活性	-0.272	0.876	0.393	0.065
SOD活性	0.640	0.405	-0.598	-0.077
POD活性	-0.023	-0.416	0.185	0.835

表 4 4 个主成分的特征值以及贡献率

Table 4 Characteristic values and contribution rates of the 4 principal components

主成分	特征值 λ	累计贡献率/%
I	4.298	35.816
II	3.451	64.574
III	1.880	80.242
IV	1.218	90.394

2.5 藏沙蒿各种质材料耐寒性综合评价

对 10 种材料的发芽指数、活力指数、芽长、可溶性糖、可溶性蛋白、过氧化物酶、脯氨酸 7 个指标进行隶属函数值的计算,得到平均隶属函数值(表 5),2 号种质耐寒性最强,平均值为 0.611 7,7 号次之,平均值为 0.533 8,37 号耐寒性最弱,平均值为 0.423 1。10 种不同海拔藏沙蒿种质材料的耐寒性顺序为 2 号>34 号>33 号>25 号>12 号>35 号>3 号>1 号>36 号>37 号。

3 讨论

3.1 低温胁迫对藏沙蒿种质萌发期的影响

藏沙蒿种子在萌发过程中会受到种子内因(种子自身生理活动)和外因(水分、氧气、温度)制约,其中温度是植物种子萌发及生长发育的主要限制因子之一^[21-26],原因在于适宜的温度可有效提高种子吸胀速率,加快种子新陈代谢,温度过低不利于种子萌发^[27]。藏沙蒿种子萌发期所需的温度相对较高,当温度降低到 8℃时,种子萌发时间延长,萌发的数量极少,说明温度强烈影响萌发种子内部的酶活性和物质代谢,温度不足,酶的活化或催化作用受到抑制,8℃很有可能

是藏沙蒿种子萌发的最低温度阈值。

在不同的温度下,藏沙蒿种质的发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数各有差异,说明适宜的温度是种子萌发最重要的条件之一。植物种子萌发所需营养物质的分解,植株的正常发育以及其他一系列的生理生化活动,都要在适宜的温度环境下才能正常进行。不同种质在不同温度下的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数存在差异,说明不同种质由于习性、生境和生理生态学等方面的差异,其最适的发芽温度差异较大。

向上等^[28]在温度对不同品种紫花苜蓿种子发芽特征的影响中表明低温胁迫显著延长种子萌发时间,并且在 4℃低温下仅有部分种子有极个别发芽。贾祥等^[29]在西藏野生垂穗披碱草对低温胁迫的耐性和适应的研究中发现,低温胁迫对垂穗披碱草种子萌发具有一定的抑制作用,随着温度的降低,发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数等指标均呈降低趋势。王钰静等^[30]在低温胁迫对北疆棉花种子萌发的影响及其耐冷性差异评价的研究中表明,随胁迫温度的提高,种子的发芽率、发芽势和发芽指数等均显著升高,种子的平均发芽时间缩短。

3.2 低温胁迫对藏沙蒿幼苗的影响

植物应对低温伤害是主动的过程,通过植物体内一系列的生理生化的代谢及胞内低温相关基因的表达和调控,在植物组织、细胞、生理和分子等多方面形成保护措施,从而抵御低温带来的伤害^[31]。

植物在受到低温胁迫时,为防止体内细胞出现脱水、结晶等状况,植物会通过渗透调节以积累可溶性

表 5 藏沙蒿耐寒隶属函数比较结果

Table 5 Comparison of cold resistance membership function of *Artemisia wellbyi* seeds

种质编号	发芽指数	活力指数	芽长	可溶性糖	可溶性蛋白	过氧化物酶	脯氨酸	平均隶属值	排序
1	0.440 5	0.444 1	0.559 5	0.328 2	0.512 0	0.466 2	0.382 3	0.447 5	8
2	0.626 8	0.561 3	0.595 1	0.557 8	0.763 4	0.565 3	0.612 5	0.611 7	1
3	0.447 4	0.357 1	0.591 8	0.428 6	0.549 2	0.449 4	0.455 6	0.468 4	7
12	0.355 4	0.362 7	0.598 6	0.376 3	0.574 5	0.565 0	0.492 6	0.475 0	5
25	0.380 8	0.334 5	0.672 0	0.387 6	0.582 5	0.608 0	0.463 4	0.489 8	4
33	0.512 7	0.422 3	0.650 3	0.449 3	0.730 8	0.518 5	0.393 9	0.525 4	3
34	0.573 1	0.454 8	0.497 9	0.535 5	0.645 7	0.420 5	0.609 7	0.533 8	2
35	0.490 6	0.426 5	0.510 1	0.454 8	0.547 7	0.371 7	0.513 3	0.473 5	6
36	0.436 3	0.337 7	0.452 5	0.444 6	0.499 6	0.543 0	0.414 8	0.446 9	9
37	0.371 5	0.311 2	0.364 2	0.458 5	0.504 7	0.434 2	0.517 7	0.423 1	10

糖、游离脯氨酸、可溶性蛋白等有机溶质的方式来维持正常的细胞渗透压和溶液浓度^[32]。可溶性糖可以通过增加植物细胞浓度,提高渗透势,维持细胞膜的稳定性,起保护剂的作用,同时提高酶的活性^[33];植物在低温条件下蛋白质会积累来维持细胞的正常代谢^[34],研究发现,低温条件下不仅植物体内可溶性蛋白含量会增加,同时还能激活或产生新的蛋白质,提高植物的抗寒性^[35];Pro是植物体内最主要的渗透调节物质^[36],低温条件下植物体内游离Pro积累,以清除体内的活性氧(ROS),保持细胞膜的稳定性,减缓低温对植物的伤害。

本研究中,低温胁迫改变了供试藏沙蒿材料的渗透调节物质含量,SS和SP含量较CK均上升,Pro含量不同材料存在差异性,说明藏沙蒿可以通过增加渗透调节物质来提高应对低温的能力,这与燕麦^[37]和番茄^[38]等研究结果一致。低温胁迫导致藏沙蒿幼苗SS和SP含量增加,2号和25号材料SS和SP含量都有较大的增加,这表明2号和25号材料渗透调节能力强于其他材料。大多数藏沙蒿种质在低温胁迫下叶片的游离Pro含量增加,说明在受到低温伤害后,其通过积累更多脯氨酸以调节体内的渗透平衡,减缓低温对植物造成的伤害,但是3、12、37号种质在低温胁迫下的Pro含量减少,说明细胞可能开始受到损害,不能产生大量的脯氨酸以调节体内渗透平衡,也表明它们的耐低温能力较差。

低温胁迫下,植物体内的各种保护酶相互协调、共同作用,以提高植物的耐逆性^[39]。SOD是金属酶,在活性氧清除酶系统中发挥核心作用。POD和CAT可以通过氧化还原作用将 H_2O_2 进一步转变成 O_2 和 H_2O ,消除 H_2O_2 的毒害作用,对植物起到保护作用。一定范围内的低温或胁迫的初期,抗氧化酶活性的增加可以有效提高植物的抗寒性^[40]。在低温胁迫下藏沙蒿叶片中SOD、CAT活性以及SS和Pro含量的增加,以去除超氧化物自由基并调控低温胁迫条件下膜脂质过氧化水平,这也是藏沙蒿对低温的一种适应策略。

本研究发现SOD和CAT酶活性与低温胁迫表现为正相关,这与徐龙^[41]、王洋洋等^[42]研究结果一致。也有研究表明随着胁迫程度的增大,SOD、POD和

CAT酶活性呈现先上升后下降的趋势^[43],可能的原因是低温胁迫程度超过了植物的耐受范围。本研究中,在低温胁迫下,多数藏沙蒿种质POD酶活性较CK有所下降,表明藏沙蒿低温胁迫的膜系统抗氧化能力弱。

3.3 藏沙蒿耐寒性综合评价

植物耐寒性过程是复杂的,是有多种因子共同协同作用的结果,且植物的耐寒性是由多基因控制的数量性状。因此在对藏沙蒿资源的耐寒鉴定中,不能单独依赖单个指标对耐寒性进行评价,必须对多个指标进行测定,但是,鉴定植物耐寒性的生理指标较多,且不同指标之间存在一定的相关性。隶属函数法采用多个指标进行综合评价,但由于不同指标之间存在相关性,致使耐寒信息有重叠。主成分分析将多个指标整合成几个较少的综合指标且这些综合指标之间不存在相关性,可以从原有的多个与植物耐寒性相关的指标中反映出整体的信息,最后利用公式计算平均隶属函数度,从而判定品种之间的耐寒性差异,提高评价指标的可靠性,该方法在多种牧草耐寒性的评价上得到应用^[44-46]。

郭郁频等^[47]运用隶属函数法对5种三叶草耐低温萌发能力进行综合评价,筛选得出荷兰白、VNS和瑞文德三叶草种子表现出较强的耐低温萌发能力。本研究通过主成分分析法将10份藏沙蒿材料各单项指标的耐寒指标转换成7个相互独立的综合指标,采用平均隶属函数法对藏沙蒿在低温下的发芽指数、活力指数、芽长、可溶性糖、可溶性蛋白、过氧化物酶、脯氨酸7个指标综合评价进行隶属函数值的计算,得到平均隶属函数值。

3.4 藏沙蒿种质所处的海拔、生境与藏沙蒿耐寒性的关系

西藏河谷沙地主要分布于“一江两河”地区,占全区沙地总面积的30%左右。河谷沙地由于地势较低,自然条件下其水源条件相对优越。廖承锐^[48]在西藏高寒河谷沙地植被恢复特征及经营对策研究研究表明,综合各植物种组成和生长特征,在河谷沙地上,藏白蒿和藏沙蒿的重要值分别为28%和16%,生长状况最优,长势最好。所以,在水源较充足的河谷沙地比较适合藏沙蒿生长发育并且有利于其抵抗外界的干扰。

4 结论

本研究采用室内鉴定方法,在低温胁迫条件下,10份藏沙蒿供试材料的发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数均显著低于对照,且各指标随着温度的降低而降低;对供试藏沙蒿苗期内进行低温胁迫,结果显示,藏沙蒿在低温胁迫下SS和SP含量增加,大多数藏沙蒿种质在低温胁迫下叶片的游离Pro增加,多数藏沙蒿种质SOD和CAT酶活性较CK有所上升,多数藏沙蒿种质POD酶活性较CK有所下降。采用平均隶属函数法对藏沙蒿综合评价得出,抗寒性较强的藏沙蒿种质为2号和34号,它们所处的海拔相对较高,在3 957~4 490 m,其所处生境为河谷沙地,抗寒性较弱的藏沙蒿种质为36号和37号,所处海拔为4 500 m左右,其所处生境为流石滩。

参考文献:

- [1] 刘合满. 西藏东南部色季拉山土壤有机碳含量与呼吸作用特征[D]. 北京:中国农业大学,2017.
- [2] 王敬龙,史睿智,仁增旺堆,等. 西藏草地藏沙蒿资源分布调查[J]. 西藏农业科技,2018,40(1):40-42.
- [3] 苗彦军,徐雅梅. 西藏野生牧草种质资源现状及利用前景探讨[J]. 安徽农业科学,2008(25):10820-10821+10835.
- [4] 西藏自治区政府新闻办. 西藏第二次草原普查成果新闻发布会[R]. [16-10-25]. K3984687-7/2016-00008.
- [5] 苗彦军,张尚雄. 西藏披碱草属牧草研究剖析[J]. 西藏科技,2014(10):3-5.
- [6] 鲍文,张恒. 气候变化对西藏草地资源的影响及其风险管理[J]. 黑龙江畜牧兽医,2012(11):95-99.
- [7] 贾祥,陈盼盼,王艳琳,等. 4种豆科牧草种子萌发期对低温胁迫的响应[J]. 高原农业,2020,4(2):137-142.
- [8] 刘彦兵,刘欣瑜,张书航,等. 西藏3种蒿属植物营养成分与矿物质元素含量研究[J]. 草地学报,2019,27(5):1448-1453.
- [9] Jian H J, Wang J, Wang T Y, *et al.* Identification of rape-seed (*Brassica napus* L.) microRNAs involved in early stage seed germination undersalt and drought stresses[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016,7(7):653-658.
- [10] Zhang S H, Xu X F, Sun Y M, *et al.* Influence of drought harden-ing on the resistance physiology of potato seed-lings under droughtstress[J]. *Journal of Integrative Agri-culture*, 2018,17(2):336-347.
- [11] 刘彦兵,刘欣瑜,张书航,等. 西藏3种蒿属植物营养成分与矿物质元素含量研究[J]. 草地学报,2019,27(5):1448-1453.
- [12] 王敬龙,史睿智,夏菲,等. 藏沙蒿与茎直黄芪的竞争效应研究[J]. 中国草地学报,2018,40(1):87-92.
- [13] Gai Y, Li X Z, Ji X L, *et al.* Chilling stress accelerates degradation of seed storage protein and photosynthetic protein during cotton seed germination [J]. *Journal of Agronomy & Crop Science*, 2010,194(4): 278-288.
- [14] Liu Y, Zhang J. Rapid accumulation of NO regulates ABA catabolism and seed dormancy during imbibition in *Arabidopsis*[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2009,4(9): 905-907.
- [15] 王俊娟,王德龙,阴祖军等. 陆地棉萌发至幼苗期抗冷性的鉴定[J]. 中国农业科学,2016,49(17):3332-3346.
- [16] 高燕. 国际种子检验协会(ISTA)[J]. 中国标准化,2017(1): 150-155.
- [17] 王苗苗,周向睿,梁国玲,等. 5份燕麦材料苗期耐盐性综合评价[J]. 草业学报,2020,29(8):143-154.
- [18] 王军,赵桂琴,柴继宽,等. BYDV 侵染对燕麦总酚和渗透调节物质含量的影响[J]. 草原与草坪,2020,40(5): 29-35.
- [19] 许晓萱. NaCl胁迫对玉米幼苗生理及膜脂代谢影响的研究[D]. 大庆:黑龙江八一农垦大学,2019.
- [20] 李培英,孙宗玖,阿不来提. PEG模拟干旱胁迫下29份偃麦草种质种子萌发期耐旱性评价[J]. 中国草地学报,2010,32(1):32-39.
- [21] 袁金超,吴莎莎,吴汉花,等. 不同青花菜品种低温胁迫生理响应及耐低温性综合评价[J]. 分子植物育种,2022,20(3):977-986.
- [22] 邵文静. 低温胁迫下高粱幼苗叶片生理及膜脂代谢调控的研究[D]. 大庆:黑龙江八一农垦大学,2021.
- [23] Bhattacharjee S. ROS and antioxidants: relationship in green cells[M]. *Physiologia Plantarum*, 2019:33-39.
- [24] 李春生,王敏敏,陈晓丹,等. 低温对草莓生理特性的影响[J]. 中低纬山地气象,2021,45(6):84-89.
- [25] 杨舒怡,陈晓阳,惠文凯,等. 逆境胁迫下植物抗氧化酶系统响应研究进展[J]. 福建农林大学学报,2016,45(5):481-489.
- [26] 袁晖,何显平,兰利达,等. 大气CO₂浓度和温度升高对紫花苜蓿生物量及其分配的影响[J]. 四川林业科技,2013,34(1):48-51.

- [27] 王晓龙,杨墨,李红,等. 低温对7个苜蓿品种种子萌发的影响[J]. 种子,2022,41(5):93—97.
- [28] 向上,汪辉,田莉华,等. 温度对不同品种紫花苜蓿种子发芽特征的影响[J]. 草原与草坪,2022,42(2):74—82.
- [29] 贾祥. 西藏野生垂穗披碱草对低温胁迫的耐性和适应[D]. 拉萨:西藏大学,2021.
- [30] 王钰静,谢磊,李志博,等. 低温胁迫对北疆棉花种子萌发的影响及其耐冷性差异评价[J]. 种子,2014,33(5):74—77.
- [31] 李钊. 玉米苗期抗冻生理响应及其转录组调控分析[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2017.
- [32] 王玉国,荆家海,王韶唐. 水分胁迫下高粱叶片的渗透调节与延伸生长的关系[J]. 植物生理学报,1991(01):37—43.
- [33] 杨斌. 低温胁迫对玉米细胞膜透性及叶绿体膜磷脂的影响[J]. 贵州农业科学,1996(1):54—55.
- [34] 黎肇业. 低温胁迫对无花果生理生化的影响[D]. 雅安:四川农业大学,2017.
- [35] Faw W F, Shih S C, Jung G A. Extractant influence on the relationship between extractable proteins and cold tolerance of alfalfa [J]. Plant Physiology, 1976, 57 (5): 720—723.
- [36] 张静,朱为民. 番茄苗期低温下生理生化特性的研究[J]. 西南农业学报,2012,25(2):420—423.
- [37] 柏晓玲,周青平,陈有军,等. 燕麦幼苗对低温胁迫的响应[J]. 草业科学,2016,33(7):1375—1382.
- [38] 罗丹,张喜春,田硕. 低温胁迫对番茄幼苗脯氨酸积累及其代谢关键酶活性的影响[J]. 中国农学通报,2013,29(16):90—95.
- [39] 邓化冰,史建成,肖应辉,等. 开花期低温胁迫对水稻剑叶保护酶活性和膜透性的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版),2011,37(6):581—585.
- [40] 郁万文,曹福亮,汪贵斌. 低温胁迫下银杏活性氧代谢与膜伤害的关系[J]. 东北林业大学学报,2010,38(7):46—48.
- [41] 徐龙. 不同种源酸枣实生苗抗寒性比较[D]. 阿拉尔:塔里木大学,2013.
- [42] 王洋洋. 春季低温对小麦生理和产量的影响及冻害评价[D]. 郑州:河南农业大学,2021.
- [43] 蔺豆豆,赵桂琴,琚泽亮,等. 15份燕麦材料苗期抗旱性综合评价[J]. 草业学报,2021,30(11):108—121.
- [44] 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.
- [45] 杨顺强. 不同禾本科牧草在干旱胁迫和低温胁迫下的生理响应[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2008.
- [46] 韩轩. 8份冷蒿种质资源材料抗寒性研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2014.
- [47] 郭郁频,李亚奎,曹春梅,等. 温度处理对三叶草种子萌发特性的影响[J]. 种子,2019,38(8):80—82+85.
- [48] 廖承锐. 西藏高寒河谷沙地植被恢复特征及经营对策研究[D]. 南京:南京林业大学,2020.

Evaluation of cold tolerance of different *Artemisia wellbyi* germplasm

ZHANG Xiao¹, LIU Huan^{1*}, WANG Jing-long², REN Zengwangdui², WANG Qi-yu¹
(1. 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; 2. Grassland Science Research Institute, Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Lhasa 850000, China)

Abstract: 【Objective】 In order to evaluate the cold resistance difference of 10 *Artemisia wellbyi* germplasm, 【Method】germination tests were carried out in low—temperature light incubators at 20 °C (control), 16 °C, 12 °C and 8 °C using 10 *A. wellbyi* germplasm at different altitudes. The germination potential, germination rate, root length, bud length and other indexes were measured at different temperatures. The stress physiological indexes were mea-

sured at 20 °C (control) and 4 °C, and the low temperature tolerance ability was comprehensively evaluated by combining principal component analysis and membership function. 【Result】The results showed that with the decrease of temperature, the germination rate, germination potential, germination index, vigor index, radicle length and germ length of 10 *A. wellbyi* seeds were lower than those of the control, and there were significant differences in the low temperature tolerance of 10 *A. wellbyi* seeds. Under low temperature stress, the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) and the contents of soluble protein (SP) and soluble sugar (SS) were increased, and the contents of proline (Pro) and peroxidase (POD) activity were different among different materials ($P < 0.05$). 【Conclusion】The results of comprehensive evaluation of 7 indexes of principal component screening by membership function method showed that the cold tolerance of No. 2 *A. wellbyi* germplasm was strong, while that of No. 37 *A. wellbyi* germplasm was weak.

Key words: *Artemisia wellbyi*; cold endurance; principal component analysis; membership function; comprehensive evaluation

(责任编辑:刘建荣)