

不同根型苜蓿根系对低温胁迫的响应及其抗寒性评价*

南丽丽¹ 师尚礼^{1**} 陈建纲¹ 朱新强¹ 郭全恩² 赵文翰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 中美草地畜牧业可持续发展研究中心 兰州 730070;

2. 甘肃省农业科学院土壤肥料与节水农业研究所 兰州 730070)

摘 要 为了解不同根型苜蓿在越冬期根系对低温胁迫的响应特征及其抗寒性强弱,本研究以根茎型“清水”紫花苜蓿 (*Medicago sativa* L. cv. “Qingshui”), 根蘖型“甘农 2 号”杂花苜蓿 (*M. varia* Martin. cv. “Gannong No. 2”) 和直根型“陇东”紫花苜蓿 (*M. sativa* L. cv. “Longdong”) 为材料,于 2009 年 9 月 15 日、10 月 15 日、12 月 15 日、2010 年 1 月 15 日、3 月 15 日在甘肃天水、榆中和武威 3 个生态区,对自然降温、升温过程中苜蓿根系脯氨酸、可溶性蛋白质、可溶性糖和丙二醛(MDA)含量及过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)活性 6 项生理指标的动态变化进行监测。结果表明,在 3 个生态区,3 类根型苜蓿根系 MDA 含量随气温的变化均呈先升高后降低再升高的变化趋势;脯氨酸、可溶性糖含量和 CAT 活性均随气温的下降而增加,随气温升高而减少;而可溶性蛋白质含量和 SOD 活性在不同生态区的不同品种间随气温的变化规律不同。应用隶属函数法进行抗寒性综合评判,不同根型苜蓿抗寒性强弱顺序为:根茎型“清水”紫花苜蓿>根蘖型“甘农 2 号”杂花苜蓿>直根型“陇东”紫花苜蓿;同一品种在不同生态区抗寒性强弱顺序为:榆中>武威>天水,与所在地的海拔呈显著正相关。

关键词 苜蓿 根型 生态区 低温胁迫 自然降温 抗寒性 生理指标

中图分类号: Q945.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-3990(2011)03-0619-07

Field evaluation of the response and resistance to low temperature of alfalfa root with different root types during over-wintering

NAN Li-Li¹, SHI Shang-Li¹, CHEN Jian-Gang¹, ZHU Xin-Qiang¹, GUO Quan-En², ZHAO Wen-Han¹

(1. Pratacultural College, Gansu Agricultural University; Key Laboratory of Grassland Ecosystem of Ministry of Education; Sino-US Centers for Grazingland Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China; 2. Institute of Soil Fertilizer and Agricultural Water-saving, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China)

Abstract Three alfalfa cultivars with different root types (rhizomatous root of *Medicago sativa* L. cv. “Qingshui”; creeping root of *M. varia* Martin. cv. “Gannong No. 2”; and tap root of *M. sativa* L. cv. “Longdong”) were used to study root adaptability to low temperatures during a natural temperature increasing-decreasing process in Tianshui, Yuzhong and Wuwei Counties of Gansu Province. Dynamic variations in proline, soluble protein, soluble sugar and MDA contents, and CAT and SOD activities in the roots were determined via trace analysis in late fall, winter and spring of the following year. The results showed that variations in root MDA content increased with decreasing air temperature in late fall and early winter. The trend in MDA content then also sharply decreased with decreasing air temperature and vice versa with increasing temperature in spring of the following year. Root contents of proline and soluble sugar, and CAT activity increased with decreasing air temperature and vice versa; the rules of soluble protein and SOD activity were difference with air temperature change in different ecotopes. Membership function analysis showed the order of cold-resistance of alfalfa cultivars was as *M. sativa* L. cv. “Qingshui” with rhizomatous root > *M. varia* Martin. cv. “Gannong No. 2” with creeping root > *M. sativa* L. cv. “Longdong” with tap root. The order of alfalfa cold-resistance in relation to the ecotopes was Yuzhong > Wuwei > Tianshui. Alfalfa cold-resistance and altitude were positively correlated.

Key words Alfalfa, Root type, Ecotope, Low temperature stress, Natural temperature dropping, Cold-resistance, Physical index

* 国家科技部项目(2007BAD52B06, 2008BADB3B07)、农业部行业专项(nyhyzx07-022)和国家现代牧草产业技术体系建设专项资助

** 通讯作者: 师尚礼(1962~), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为草种质资源与育种。E-mail: shishl@gsau.edu.cn

南丽丽(1979~), 女, 讲师, 博士生, 主要从事草种质资源与育种研究。E-mail: nanll@gsau.edu.cn

收稿日期: 2010-08-02 接受日期: 2011-01-19

(Received Aug. 2, 2010; accepted Jan. 19, 2011)

苜蓿的抗寒性很大程度上取决于根系, 苜蓿根系可划分为直根型(tap rooted)、侧根型(branch rooted)、根蘖型(creeping rooted)和根茎型(rhizomatous rooted)4类^[1]。直根型苜蓿基因源主要来自于紫花苜蓿, 侧根型、根蘖型和根茎型苜蓿都不同程度地具有野生黄花苜蓿的基因^[2], 一般认为其对干旱、严寒的抵抗力较强。但引种观察表明, 在一些地区侧根型、根蘖型和根茎型苜蓿并未表现出比直根型苜蓿更抗寒^[3]。造成这种差异的原因是苜蓿抗寒性既取决于其本身遗传特性, 也受环境因素对代谢更迭的影响^[4]。

低温胁迫下植物可积累更多的脯氨酸^[5]、可溶性蛋白质^[6]、可溶性糖等。这些物质的大量积累可降低细胞水势, 增强持水力, 且可以缓和细胞外结冰后细胞失水, 增强膜的稳定性; 也是植物越冬、再生的能量和物质来源, 与植物抗寒性密切相关^[7]。植物的抗寒性还与植物体内保护酶系统的活性和膜脂过氧化程度密切相关。抗寒性强的品种保护酶活性高, 对环境反应快, 抗氧化能力强, 受冻害影响小^[8]。

目前, 有关根蘖型、直根型苜蓿抗寒性的差异及影响因素已有报道^[9-10], 但对不同生态区不同根型苜蓿抗寒性的研究还鲜见报道。为此, 本研究跟踪测定了田间自然降温过程中3个生态区不同根型苜蓿根系的体内渗透调节物质、细胞膜质过氧化和保护酶活性的变化, 并根据指标测定值的变化趋势, 采用隶属函数法对3个生态区不同根型苜蓿的抗寒能力进行综合评价, 为不同根型苜蓿在生产中的推广和应用提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

1.1.1 甘肃天水试验区 位于甘肃省天水市麦积区中滩镇, 北纬 34°42', 东经 105°39', 海拔 1 100 m, 属大陆性半湿润季风气候, 年均气温 11.6 °C, 降水量 427 mm, 蒸发量 1 504 mm, 无霜期 201 d, 土壤

土。苜蓿播种期为 2009 年 4 月 23 日, 出苗期为 2009 年 5 月 1 日。

1.1.2 甘肃榆中试验区 位于甘肃省兰州市榆中县和平镇, 北纬 35°52', 东经 104°09', 海拔 1 874 m, 属温带半干旱大陆性气候, 年均气温 9.7 °C, 降水量 320 mm, 蒸发量 1 664 mm, 无霜期 177 d, 黑垆土。苜蓿播种期为 2009 年 4 月 3 日, 出苗期为 2009 年 4 月 20 日。

1.1.3 甘肃武威试验区 位于甘肃省武威市黄羊镇, 北纬 37°55', 东经 102°40', 海拔 1 530 m, 属温带干旱荒漠气候, 年均气温 7.7 °C, 降水量 150 mm, 蒸发量 2 020 mm, 无霜期 154 d, 灌淤土。苜蓿播种期为 2009 年 4 月 13 日, 出苗期为 2009 年 4 月 24 日。

3 个生态区的土壤化学性状见表 1。

1.2 试验设计

3 个生态区均采用完全随机设计, 3 个处理, 3 次重复, 9 个小区; 播深 2 cm, 行距 30 cm, 小区面积 15.0 m²(3.0 m×5.0 m), 相邻 2 小区间隔 0.5 m 的保护行, 播种量 10 kg·hm⁻²。供试品种根茎型“清水”紫花苜蓿(*Medicago sativa* L. cv. “Qingshui”)、根蘖型“甘农 2 号”杂花苜蓿(*M. varia* Martin. cv. “Gannong No. 2”)、直根型“陇东”紫花苜蓿(*M. sativa* L. cv. “Longdong”), 其种子均由甘肃农业大学牧草教研组提供。

1.3 取样和测定方法

分别于 2009 年 9 月 15 日、10 月 15 日、12 月 15 日, 2010 年 1 月 15 日、3 月 15 日在各试验小区随机挖取供试材料的根系, 测量不同根型苜蓿田间越冬期各项生理指标的动态变化。酸性茚三酮法测定脯氨酸(proline, Pro)含量, 考马斯亮蓝 G-250 染色法测定可溶性蛋白质(soluble protein, SP)含量, 蒽酮比色法测定可溶性糖(water soluble sugar, WSS)含量, 硫代巴比妥酸法测定丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量, 高锰酸钾滴定法测定过氧化氢酶(catalase, CAT)活性, 氮蓝四唑光化还原法测定超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性^[11], 均 3 次重复。

表 1 3 个生态区的土壤化学性状
Table 1 Chemical characters of soil in three tested ecotopes

| 生态区 Ecotope | 土层深度 Soil depth (cm) | pH | 有机质 Organic matter (g·kg ⁻¹) | 全氮 Total N (g·kg ⁻¹) | 全磷 Total P (g·kg ⁻¹) | 速效氮 Available N (mg·kg ⁻¹) | 速效磷 Available P (mg·kg ⁻¹) | 速效钾 Available K (mg·kg ⁻¹) |
|----------------|-------------------------|------|--|--|--|--|--|--|
| 天水 Tianshui | 0~20 | 8.62 | 19.33 | 5.51 | 3.15 | 105.0 | 15.17 | 129.96 |
| | 20~40 | 8.50 | 9.07 | 5.65 | 3.12 | 102.2 | 6.97 | 244.92 |
| 榆中 Yuzhong | 0~20 | 8.47 | 13.48 | 5.37 | 3.79 | 74.2 | 10.93 | 164.94 |
| | 20~40 | 8.55 | 6.92 | 5.37 | 3.72 | 68.6 | 3.01 | 109.94 |
| 武威 Wuwei | 0~20 | 8.70 | 10.60 | 7.07 | 3.32 | 88.2 | 13.24 | 119.95 |
| | 20~40 | 8.67 | 10.38 | 5.37 | 3.03 | 84.0 | 9.77 | 69.94 |

1.4 数据统计分析

用 Microsoft excel 处理数据并作图,用 SPSS16.0 软件进行显著性分析。本试验各指标的量纲不同,需对数据进行标准化处理,其计算公式为:

$$Z_i = \frac{X_i - \bar{X}}{S} \quad (1)$$

式中, X_i 为原变量的第 i 个观测值, \bar{X} 为该变量所有观测值的平均数, S 为标准差。

应用 Fuzzy 数学中隶属函数法^[12]进行综合评判,其中,对与抗寒性呈正相关的脯氨酸、可溶性蛋白质、可溶性糖、CAT 和 SOD 参数采用公式(2)计算:

$$F_{ijk} = \frac{X_{ijk} - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}} \quad (2)$$

对与抗寒性呈负相关的 MDA 参数采用公式(3)计算:

$$F_{ijk} = 1 - \frac{X_{ijk} - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}} \quad (3)$$

式中, F_{ijk} 为第 i 个品种第 j 个温度第 k 项指标的隶属度, X_{ijk} 为第 i 个品种第 j 个温度阶段第 k 项指标测定值, X_{\max} 、 X_{\min} 为所有参试材料中第 k 项指标的最大值和最小值。

2 结果与分析

2.1 不同根型苜蓿根系脯氨酸含量的变化

由表 2 可见,甘肃天水、榆中和武威 3 个生态区各根型苜蓿根系脯氨酸(Pro)含量随温度季节变化呈现先上升后下降的趋势。9~12 月,“甘农 2 号”在榆中生态区根系 Pro 含量略有增加,但增幅不显著,其余

生态区根系 Pro 含量增幅显著($P<0.05$),其中天水生态区“甘农 2 号”在 12 月份根系 Pro 积累到最大含量;随着寒冷的加剧,12 月到翌年 1 月中旬,天水生态区“甘农 2 号”根系 Pro 含量开始迅速下降,其余根系 Pro 含量持续增加,且在翌年 1 月积累到最大含量;1~3 月,不同生态区各根型苜蓿根系 Pro 含量均下降,除“甘农 2 号”杂花苜蓿和“陇东”紫花苜蓿在天水翌年 3 月根系 Pro 含量显著低于上一年 9 月份的含量($P<0.05$)外,其余均显著高于上一年 9 月份的含量($P<0.05$)。

2.2 不同根型苜蓿根系可溶性蛋白质含量的变化

由表 3 可见,各根型苜蓿在天水生态区和“甘农 2 号”在武威生态区根系可溶性蛋白质(SP)含量随生育期温度的变化呈先升高后降低的变化趋势,各根型苜蓿在榆中生态区和“清水”紫花苜蓿、“陇东”紫花苜蓿在武威生态区根系可溶性蛋白质(SP)含量随生育期延长呈先增加后降低然后再增加的趋势。9~10 月,除“陇东”紫花苜蓿在武威根系 SP 含量增幅不显著外,其余苜蓿根系 SP 含量在天水和武威显著增加($P<0.05$),在榆中显著降低($P<0.05$);10~12 月,“清水”紫花苜蓿和“陇东”紫花苜蓿在武威有所降低,其余显著增加($P<0.05$);随着低温强度的增加,12 月到翌年 1 月,3 个生态区各根型苜蓿根系 SP 含量急剧增加($P<0.05$)并达到最大值;1 月以后各根型苜蓿根系 SP 含量开始下降,但所有品种在翌年 3 月根系 SP 含量仍显著高于上一年 9 月份($P<0.05$)。田间越冬期间,根茎型“清水”紫花苜蓿根系 SP 含量相对较高且持续增加,持续时间较长,对品种的抗寒及其生存具有重要生理意义。

表 2 3 个生态区不同根型苜蓿根系脯氨酸含量变化

Table 2 Variation in proline content in root of alfalfa cultivars with different root types in three ecotypes $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

| 生态区 Ecotype | 品种 Cultivar | 取样日期(月-日) Sampling date (month-day) | | | | |
|----------------|----------------|-------------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | 09-15 | 10-15 | 12-15 | 01-15 | 03-15 |
| 天水 Tianshui | | 217.68±0.34e | 307.62±0.55c | 354.14±0.16b | 414.99±0.72a | 287.52±0.28d |
| | | 225.36±0.46d | 358.55±0.60b | 360.20±0.80a | 273.15±0.67c | 178.36±0.19e |
| | | 152.30±0.60d | 265.34±0.29c | 347.61±0.57b | 409.32±0.58a | 125.30±0.16e |
| 榆中 Yuzhong | | 284.76±0.48e | 351.51±0.56d | 354.13±0.80c | 558.75±1.05a | 535.47±1.15b |
| | | 359.65±0.60c | 360.26±0.50c | 361.07±1.32c | 574.03±1.25a | 554.33±1.31b |
| | | 326.43±0.44e | 357.07±0.71d | 366.45±0.40c | 576.22±0.55a | 556.29±1.19b |
| 武威 Wuwei | | 287.58±3.99d | 356.95±0.47c | 354.58±0.20c | 564.67±0.41a | 560.35±1.23b |
| | | 291.23±0.75e | 360.38±0.54d | 365.39±0.63c | 575.57±0.50a | 563.80±1.51b |
| | | 331.46±0.56e | 360.31±0.45d | 371.39±0.45c | 599.57±0.70a | 583.60±0.99b |

: “清水”紫花苜蓿 *M. sativa* L. cv. “Qingshui”; : “甘农 2 号”杂花苜蓿 *M. varia* Martin. cv. “Gannong No. 2”; : “陇东”苜蓿 *M. sativa* L. cv. “Longdong”. 同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$) Different small letters in each row indicate significant difference at 0.05 level. 下同 The same below.

2.3 不同根型苜蓿根系可溶性糖含量变化

由表 4 可见, 随着秋冬温度的下降, 甘肃天水、榆中和武威 3 个生态区各根型苜蓿根系可溶性糖(WSS)含量都普遍升高; 随翌年温度的回升, WSS 含量都呈现降低趋势。9~12 月, 3 个生态区各根型苜蓿根系 WSS 含量缓慢增加; 12 月到翌年 1 月, 除榆中生态区“甘农 2 号”根系 WSS 含量增加不显著外, 其余均显著增加 ($P<0.05$)且达到最大值; 1 月后, 除榆中生态区“清水”紫花苜蓿根系 WSS 含量降幅不显著外, 其余均显著降低 ($P<0.05$)。在整个测试期内, 根茎型“清水”紫花苜蓿在

每一时期根系 WSS 含量的积累不都是最高, 但能以最少的消耗度过冬季, 证明其具有较好的抗寒能力。

2.4 不同根型苜蓿根系 MDA 含量的变化

由表 5 可见, 随着秋天气温下降, 甘肃天水、榆中和武威 3 个生态区各根型苜蓿根系 MDA 含量均在 10 月中旬达到最高; 随气温进一步降低, 各根型苜蓿根系 MDA 含量降幅显著($P<0.05$), 均于翌年 1 月中旬达到最低; 翌年 3 月, 除武威生态区“清水”紫花苜蓿和“陇东”紫花苜蓿根系 MDA 含量增幅不显著外, 其余均显著增加($P<0.05$)。

表 3 3 个生态区不同根型苜蓿根系可溶性蛋白质含量变化

Table 3 Variation in protein content in root of alfalfa cultivars with different root types in three ecotypes $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$

| 生态区 Ecotype | 品种 Cultivar | 取样日期(月-日) Sampling date (month-day) | | | | |
|----------------|----------------|-------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 09-15 | 10-15 | 12-15 | 01-15 | 03-15 |
| 天水 Tianshui | | 11.33±0.21e | 20.31±0.15d | 29.36±0.29c | 91.91±0.53a | 72.36±0.53b |
| | | 7.53±0.09e | 15.07±0.03d | 18.43±0.03c | 74.11±0.16a | 60.15±0.14b |
| | | 12.55±0.19e | 18.60±0.18d | 19.75±0.59c | 81.44±0.58a | 52.70±0.41b |
| 榆中 Yuzhong | | 36.23±0.80d | 27.23±0.12e | 38.48±0.53c | 99.40±0.58a | 91.11±0.41b |
| | | 30.24±0.16c | 19.95±0.27e | 23.30±0.62d | 79.21±0.35a | 72.72±0.09b |
| | | 20.20±0.58d | 16.65±0.13e | 25.11±0.74c | 80.79±0.38a | 72.16±0.08b |
| 武威 Wuwei | | 15.98±0.49e | 26.03±0.77c | 22.50±0.12d | 92.84±0.80a | 85.91±0.19b |
| | | 12.47±0.13e | 19.62±0.66d | 21.96±0.43c | 94.77±0.51a | 74.18±1.76b |
| | | 24.02±0.69c | 26.25±0.26c | 20.20±0.58d | 83.59±2.93a | 69.97±0.91b |

表 4 3 个生态区不同根型苜蓿根系可溶性糖含量变化

Table 4 Variation in soluble sugar content in root of alfalfa cultivars with different root types in three ecotypes $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$

| 生态区 Ecotype | 品种 Cultivar | 取样日期(月-日) Sampling date (month-day) | | | | |
|----------------|----------------|-------------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | 09-15 | 10-15 | 12-15 | 01-15 | 03-15 |
| 天水 Tianshui | | 148.71±0.10b | 149.60±0.05b | 150.58±0.24b | 175.49±0.27a | 103.48±0.12c |
| | | 146.91±0.07c | 150.71±0.03b | 152.15±0.03b | 169.15±0.16a | 62.79±0.14d |
| | | 137.28±0.01bc | 135.78±0.30c | 139.63±0.02b | 149.81±0.03a | 65.53±0.07d |
| 榆中 Yuzhong | | 150.82±0.04b | 152.43±0.02b | 152.79±0.00b | 181.59±0.62a | 179.39±0.29a |
| | | 152.89±0.03ab | 155.18±0.03a | 155.23±0.01a | 155.65±0.84a | 143.36±0.84b |
| | | 145.89±0.00b | 148.78±0.04b | 148.75±0.02b | 170.21±0.55a | 139.50±0.53c |
| 武威 Wuwei | | 147.65±0.04d | 150.81±0.05d | 160.86±0.02c | 185.44±0.05a | 178.29±0.46b |
| | | 150.41±0.01d | 151.84±0.00d | 153.59±0.02c | 183.70±0.02a | 173.97±0.21b |
| | | 153.15±0.03d | 157.19±0.02c | 148.50±0.01e | 168.18±0.20a | 163.38±0.29b |

表 5 3 个生态区不同根型苜蓿根系 MDA 含量变化

Table 5 Variation in MDA content in root of alfalfa cultivars with different root types in three ecotypes $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$

| 生态区 Ecotype | 品种 Cultivar | 取样日期(月-日) Sampling date (month-day) | | | | |
|----------------|----------------|-------------------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| | | 09-15 | 10-15 | 12-15 | 01-15 | 03-15 |
| 天水 Tianshui | | 49.09±0.14b | 61.50±0.33a | 40.94±0.29c | 12.92±0.17e | 31.26±0.16d |
| | | 47.11±0.27b | 55.29±0.16a | 41.92±0.17c | 18.85±0.20e | 38.09±0.33d |
| | | 45.72±0.26b | 63.81±0.33a | 37.14±0.18c | 21.62±0.29e | 28.05±0.22d |
| 榆中 Yuzhong | | 18.31±0.69c | 30.80±0.25a | 21.44±0.43b | 12.17±0.14e | 14.10±0.21d |
| | | 28.42±0.04b | 31.98±0.04a | 21.73±0.03c | 13.50±0.05e | 17.18±0.02d |
| | | 29.15±0.01b | 38.58±0.10a | 25.86±0.21c | 13.67±0.47e | 16.85±0.29d |
| 武威 Wuwei | | 35.53±0.12b | 44.65±0.36a | 20.72±0.57c | 16.41±0.02d | 17.32±0.27d |
| | | 46.56±0.23b | 51.17±0.49a | 25.82±0.90c | 16.18±0.06d | 24.91±0.07c |
| | | 33.97±0.22b | 41.54±0.40a | 27.57±0.04c | 24.92±0.07d | 25.84±0.35cd |

2.5 不同根型苜蓿根系 SOD 活性的变化

由表 6 可知, 9~12 月, 除天水生态区“陇东”紫花苜蓿根系 SOD 活性呈先降低后增加的趋势, 其余苜蓿在甘肃天水、榆中和武威 3 个生态区根系 SOD 活性均显著升高, 且在 12 月份达到峰值, 这可能是由于低温胁迫下植物体内活性氧的产生增多, 植物启动保护机制使 SOD 活性升高, 以防御活性氧伤害。12 月到翌年 1 月, 根系 SOD 活性均下降, 说明植物对低温都有一定的耐受范围, 植物体内的保护机制会受损; 1~3 月, 天水生态区“甘农 2 号”杂花苜蓿、武威生态区“清水”紫花苜蓿和“甘农 2 号”杂花苜蓿根系 SOD 活性有所升高, 天水生态区“陇东”紫花苜蓿和榆中生态区“清水”紫花苜蓿根系 SOD 活性有所降低, 其余变化不大。

2.6 不同根型苜蓿根系 CAT 活性的变化

由表 7 可见, 甘肃天水、榆中和武威 3 个生态区各根型苜蓿根系 CAT 活性随气温的变化均呈先升高后降低的趋势。9~12 月, 各根型苜蓿根系 CAT 活性

普遍升高, 在水天生态区各根型苜蓿根系 CAT 活性均在 12 月份达到最高值, 而后降低; 12 月中旬到翌年 1 月, 榆中和武威生态区各根型苜蓿根系 CAT 活性均在翌年 1 月达到最高值, 1 月以后显著降低($P<0.05$)。

2.7 田间低温胁迫下不同根型苜蓿品种抗寒性综合评价

植物受到逆境胁迫后, 受多种因素影响, 生理变化错综复杂^[13], 孤立地用某一指标表示这一复杂的生理过程, 很难真实地反映植物的抗寒性本质^[14]。因此, 采用隶属函数值法对各项指标测定值用模糊数学隶属度公式进行定量转换, 根据函数值的大小对不同生态区 3 类根型苜蓿抗寒性进行综合评定, 综合评定值越大, 抗寒性越强, 反之则弱。3 个生态区各根型苜蓿 6 项抗寒指标的综合评判结果见图 1, 不同根型苜蓿抗寒性强弱顺序为: 根茎型“清水”紫花苜蓿>根蘖型“甘农 2 号”杂花苜蓿>直根型“陇东”紫花苜蓿; 同一苜蓿品种在不同生态区抗寒性强弱顺序为榆中>武威>天水。

表 6 3 个生态区不同根型苜蓿根系 SOD 活性变化
Table 6 Variation in SOD activity in root of alfalfa cultivars with different root types in three ecotypes U·g⁻¹

| 生态区 Ecotype | 品种 Cultivar | 取样日期(月-日) Sampling date (month-day) | | | | |
|----------------|----------------|-------------------------------------|-------------|------------|------------|-------------|
| | | 09-15 | 10-15 | 12-15 | 01-15 | 03-15 |
| 天水 Tianshui | | 5.91±0.16c | 6.23±0.14b | 7.19±0.09a | 5.00±0.21d | 4.78±0.22d |
| | | 5.33±0.18b | 6.11±0.18a | 6.23±0.21a | 4.77±0.27c | 5.39±0.10b |
| | | 6.08±0.11a | 5.32±0.12c | 5.85±0.14b | 5.18±0.15c | 4.81±0.07d |
| 榆中 Yuzhong | | 5.85±0.06b | 6.61±0.26a | 6.95±0.18a | 5.48±0.34b | 3.85±0.22c |
| | | 6.37±0.06a | 6.43±0.13a | 6.57±0.08a | 3.84±0.32b | 3.89±0.27b |
| | | 5.72±0.25b | 6.27±0.14a | 6.30±0.16a | 4.60±0.09c | 4.50±0.10c |
| 武威 Wuwei | | 6.09±0.19b | 6.43±0.09a | 6.60±0.18a | 5.19±0.14d | 5.54±0.20c |
| | | 6.22±0.15b | 6.44±0.13ab | 6.53±0.06a | 4.59±0.18d | 4.94±0.12c |
| | | 5.32±0.13b | 6.06±0.13a | 6.23±0.56a | 4.58±0.14c | 4.86±0.11bc |

表 7 3 个生态区不同根型苜蓿根系 CAT 活性变化
Table 7 Variation in CAT activity in root of alfalfa cultivars with different root types in three ecotypes mg·g⁻¹·min⁻¹

| 生态区 Ecotype | 品种 Cultivar | 取样日期(月-日) Sampling date (month-day) | | | | |
|----------------|----------------|-------------------------------------|-------------|-------------|--------------|-------------|
| | | 09-15 | 10-15 | 12-15 | 01-15 | 03-15 |
| 天水 Tianshui | | 14.62±0.34e | 22.51±0.20c | 54.40±0.35a | 29.52±0.34b | 19.52±0.15d |
| | | 28.53±0.31d | 40.40±0.28b | 55.50±0.44a | 33.49±0.26c | 16.26±0.00e |
| | | 20.81±0.01d | 27.42±0.03c | 42.52±0.02a | 29.26±0.30b | 11.44±0.28e |
| 榆中 Yuzhong | | 26.77±0.34c | 26.88±0.20c | 84.87±0.76b | 105.14±1.01a | 16.30±0.01d |
| | | 39.23±0.03d | 44.44±0.03c | 76.54±0.01b | 87.42±0.84a | 24.18±0.84e |
| | | 33.12±0.69d | 36.52±0.08c | 43.48±0.26b | 48.97±0.85a | 6.08±0.03e |
| 武威 Wuwei | | 33.57±0.68c | 44.12±0.68b | 43.42±1.02b | 50.28±0.18a | 22.91±1.35d |
| | | 41.62±1.88e | 47.84±0.86d | 79.59±2.88b | 87.69±1.48a | 62.05±1.86c |
| | | 22.72±0.30e | 31.94±0.68c | 46.09±3.05b | 51.64±0.60a | 26.28±0.67e |

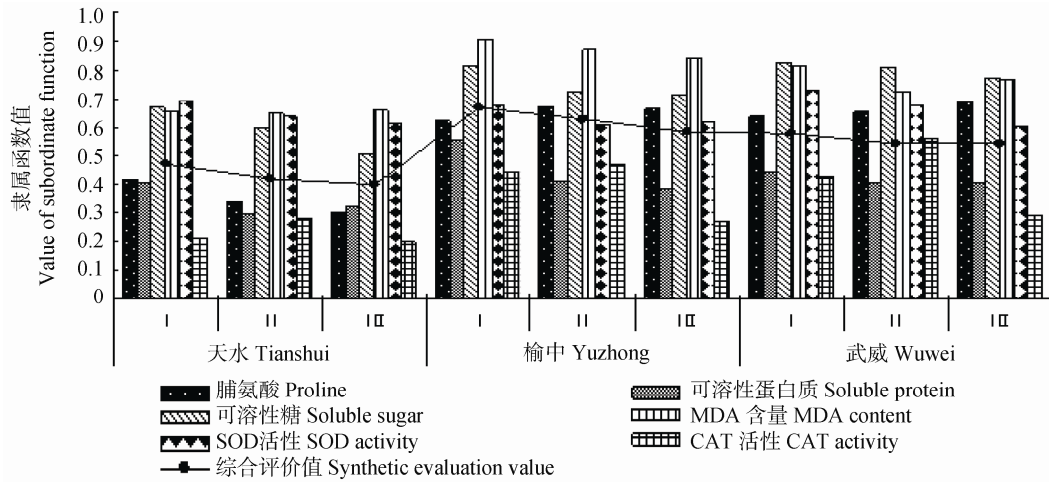


图 1 3 个生态区不同根型苜蓿抗寒性综合评判

Fig. 1 Comprehensive evaluation of cold-resistance of alfalfa cultivars with different root types in three ecotypes

将各项指标隶属度平均值与综合评定值进行相关分析, 结果表明, 田间越冬期脯氨酸、可溶性蛋白质、可溶性糖、MDA 含量与综合评价值达极显著相关, 相关系数分别为 0.862、0.845、0.823、0.954; SOD、CAT 与综合评定值相关系数为 0.169、0.666, 未达到显著水平。说明在低温胁迫下, 脯氨酸、可溶性蛋白质、可溶性糖含量越高, MDA 含量越少, 抗寒性越强。用综合评定结果与各生态区地理气候因子作相关分析, 结果表明综合评定结果与纬度呈正相关, 相关系数为 0.434, 但不显著; 与经度、年均气温、年均降水量呈负相关, 其相关系数分别为 -0.434、-0.584、-0.487, 相关性不显著; 与海拔高度显著正相关, 相关系数为 0.999。说明各根型苜蓿抗寒能力随生态区海拔高度的升高而增强, 反映了各根型苜蓿抗寒能力遗传变异与环境变化的关系。

3 讨论与结论

植物在遭受环境胁迫时, 活性氧会大大增加^[15], MDA 是植物在遭受逆境伤害时细胞膜的过氧化产物, 对细胞产生伤害作用。本研究中各根型苜蓿在 3 个生态区根系 MDA 含量均呈现先增加后降低然后再增加的变化趋势。9 月份气温下降, 各根型苜蓿根部积累了大量的 MDA, 10 月份 MDA 含量达到最大值, 翌年 1 月降低到最低值, 这是因为持续低温期间根系中 Pro、SP 和 WSS 都不同程度地主动积累, 从而提高植物细胞的渗透调节能力^[16], 有效防止了活性氧对膜脂和蛋白质的过氧化作用; 另外, SOD、CAT 是酶促防御系统的重要保护酶类, 其活力在抗寒锻炼后持续升高并协同作用及时清除了体内活性氧和自由基, 对细胞起到保护作用。翌年 1~3 月, 由

于低温保护物质 Pro、SP 和 WSS 逐渐减少及保护酶 SOD 和 CAT 活性减弱, MDA 含量又开始逐渐升高。

相关分析得出, 低温胁迫下脯氨酸、可溶性蛋白质、可溶性糖、MDA 含量与综合评价值极显著正相关, 说明这几项指标可作为各根型苜蓿抗寒性鉴定指标, 其他作为参考指标, 来综合评价其抗寒性。不同生态区的光照、温度、水分、营养条件、土壤物理状况及其他生态因子对根系的生长均有不同程度的影响, 相关分析表明, 各根型苜蓿抗寒能力随着不同生态区海拔高度的升高而增强, 这是各根型苜蓿对各生态区综合生态因子变化的遗传适应。

植物的抗寒性是受其生理生化特征综合作用的遗传表现, 因此, 单一抗寒指标难于判断植物对寒冷的综合适应能力^[12], 隶属函数分析提供了一条在多指标测定基础上对苜蓿抗寒性进行综合评价的途径。本研究运用隶属函数法对 3 个生态区各根型苜蓿根系 Pro、WSS、SP、MDA、CAT 及 SOD 6 个生理指标进行综合分析, 得出其抗寒性顺序为根茎型“清水”紫花苜蓿>根茎型“甘农 2 号”杂花苜蓿>直根型“陇东”紫花苜蓿, 这与洪绶曾^[17]、梁慧敏等^[9]试验结论一致, 说明分枝型根系比单个直根能更好地忍受冻拔现象。

参考文献

- [1] 刘志鹏, 杨青川, 呼天明. 侧根型紫花苜蓿遗传基础及其育种研究进展[J]. 中国草地, 2003, 25(3): 66-71
- [2] 王铁梅. 苜蓿根茎性状发生及其调节机制研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2008: 2
- [3] 洪绶曾, 吴义顺, 于康富. 根茎型苜蓿引种的研究[J]. 草业科学, 1987(5): 1-4

- [4] 刘鸿先, 曾韶西, 李平, 等. 零上低温对不同抗冷力的亚热带植物过氧化物酶与酯酶同工酶的影响[J]. 植物生理学报, 1981, 17(4): 337-343
- [5] 孟凡珍, 张振贤, 于贤昌, 等. 田间低温胁迫对大白菜某些理化特性的影响研究[J]. 中国生态农业学报, 2005, 13(2): 84-86
- [6] 周瑞莲, 张普金. 春季高寒草地牧草根中营养物质含量和保护酶活性的变化及其生态适应性研究[J]. 生态学报, 1996, 16(4): 402-407
- [7] Garaham D, Patterson B D. Responses of plants to low, nonfreezing temperatures: Proteins, metabolism, and acclimation[J]. Annu Rev Plant Physiol, 1982, 33: 347-372
- [8] 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: 自然科学版, 2005, 42(1): 190-194
- [9] 梁慧敏, 夏阳. 苜蓿抗寒性及根蘖性状的表现与过氧化物酶同工酶关系的研究[J]. 草业学报, 1998, 7(4): 55-60
- [10] 梁慧敏, 夏阳. 碳水化合物含量和过氧化物酶活性变化与苜蓿抗寒性的关系[J]. 甘肃农业大学学报, 1995, 30(4): 307-311
- [11] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 8
- [12] 李铁冰, 杨顺强, 任广鑫, 等. 低温处理下不同禾本科牧草的生理变化及其抗寒性比较[J]. 生态学报, 2009, 29(3): 1341-1347
- [13] 杨敏生, 裴保华, 程志鹏. 白杨杂种无性系抗寒性生理指标动态分析[J]. 植物生态学报, 1997, 21(4): 367-375
- [14] 沈漫, 王明庥, 黄敏仁. 植物抗寒机理研究进展[J]. 植物学通报, 1997, 14(2): 1-8
- [15] 汪月霞, 孙国荣, 王建波, 等. Na_2CO_3 与 NaCl 胁迫下星星草幼苗叶绿体保护酶活性的比较[J]. 草业学报, 2007, 16(1): 81-86
- [16] 许桂芳, 张朝阳. 高温胁迫对 4 种珍珠菜属植物抗性生理生化指标的影响[J]. 中国生态农业学报, 2009, 17(3): 565-569
- [17] 洪绂曾. 苜蓿根系的类型和根蘖型苜蓿的选育[J]. 牧草与饲料, 1987(1): 10-15