

紫花苜蓿越夏期的生理生化反应及评价

张晓霞^{1,2}, 高永革^{1,3}, 郑春雷², 王成章¹, 王彦华²

(1. 河南农业大学牧医工程学院, 河南 郑州 450002; 2. 河南省饲草饲料站, 河南 郑州 450008;
3. 河南省畜牧局奶业管理办公室, 河南 郑州 450008)

摘要: 高温胁迫会致使植物发生一系列生理、生化及形态上的变化, 为了研究在自然高温条件下不同紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) 品种的生理生化变化情况, 本研究选取 22 个紫花苜蓿品种, 采用随机区组设计, 测定在夏季高温期不同自然温度下叶片的相对含水量、相对电导率、可溶性蛋白含量、SOD 和 POD 活性的动态变化, 并通过聚类分析的方法, 初步评价不同紫花苜蓿品种对夏季高温的耐受力, 休眠级与抗热性之间以及各评价指标之间的相关性。结果表明, 1) 随着温度由低—高一低的变化, 相对含水量、可溶性蛋白含量、SOD 和 POD 活性先升高后降低, 叶片相对电导率逐渐上升, 第 4 次样品平均相对电导率是第 1 次样品的 3.36 倍; 2) 通过层次聚类将参试品种对高温的耐受力分为 3 类, 其中耐热类品种为赛特、德宝、皇冠、皇后 2000、8925MF、金皇后和 WL414, 中等耐热品种为赛迪 7 号、南霸天、丰宝、WL-525HQ、阿尔冈金、猎人河、苜蓿王、牧歌 401 和四季旺, 其余参试品种耐热性较差; 3) 相关性分析表明, 休眠级与相对含水量极显著负相关 ($P < 0.01$), 与可溶性蛋白含量和 POD 活性显著负相关 ($P < 0.05$), 与电导率和 SOD 活性之间相关系数为 0.138 和 -0.405; 测定 5 个生理生化指标之间呈现极显著相关关系。

关键词: 高温; 休眠; 电导率; SOD; POD

中图分类号: S551⁺.701; Q945.79

文献标识码: A

文章编号: 1001-0629(2012)09-1407-10

夏季高温于对紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) 造成热损伤, 使其物质运输和光合作用受到抑制, 同时使许多酶系统失活、生理代谢失衡、从土壤中吸收水分和养分的能力下降^[1], 进而降低株高和产草量^[2-4]。研究表明, 在夏季最高温度超过 30 °C 的地区, 苜蓿越夏时都有死亡现象, 温度越高死亡越严重, 不同品种、不同地区、不同生育时期的苜蓿越夏率不一致^[1-7]。姜义宝等^[6]对苜蓿高温 42 °C/33 °C (昼/夜) 胁迫下的生理生化特性进行了研究, 发现随着胁迫时间的延长, 苜蓿叶片的细胞膜透性增大, SOD 的活性呈先增高后降低的趋势; 李慥哲等^[7]在室内人工模拟高温环境, 测定了 9 个苜蓿品种幼苗的细胞膜透性、游离脯氨酸含量等指标, 结果表明细胞膜透性变化与苜蓿品种幼苗的抗热能力呈负相关, 且 9 个品种幼苗的受害温度范围为 42~47 °C。上述大多数研究是在人工模拟条件下进行的, 对于

不同紫花苜蓿品种在夏季自然高温条件下的生理生化特性研究较少。本研究以 22 个紫花苜蓿品种为材料, 分析在夏季自然高温条件下, 苜蓿不同生长期的生理生化变化规律, 以期为揭示其抗热机制提供理论依据, 同时筛选出适合河南省高温干旱地区栽培的苜蓿品种。

1 材料与方法

1.1 试验地概况 试验在郑州市黄河滩区河南省饲草饲料站牧草基地进行, 试验地位于 34°18' N, 113°44' E。试验地为沙壤土, 有机质含量 0.89%, 速效氮 57.73 mg · kg⁻¹, 速效磷 14.02 mg · kg⁻¹, 速效钾 188.30 mg · kg⁻¹, pH 值 8.2, 地势平坦。当地气候温和, 四季分明, 该地区年平均降水量 614 mm, 年日均温 14.6 °C, 1 月极端低温 -10.2 °C, 7 月极端高温 41.5 °C (表 1)。年日照时数 2 000~2 500 h, 无霜期 210~230 d。

收稿日期: 2011-11-05 接受日期: 2012-06-19
基金项目: 国家自然科学基金(30771527); 现代农业产业技术体系建设专项资金
作者简介: 张晓霞(1985-), 女, 河南禹州人, 硕士, 研究方向为牧草栽培与开发利用。E-mail: zhangxiaoxia129@126.com
通信作者: 王成章 E-mail: wangchengzhang@263.net

表 1 试验期间每月的气候条件

Table 1 Climate condition of each month during the study

项目 Item	年份 Year	1月 Jan.	2月 Feb.	3月 Mar.	4月 Apr.	5月 May	6月 June	7月 July	8月 Aug.	9月 Sept.	10月 Oct.	11月 Nov.	12月 Dec.	年均值 Average
温度 Temperature/°C	2007	2.4	7.6	10.1	17.0	24.6	26.0	26.2	26.4	22.1	15.9	9.3	3.9	16.0
	2008	-0.7	2.8	12.2	23.7	23.7	26.1	26.6	26.8	21.6	17.2	10.7	3.8	16.2
	2009	1.0	5.9	10.1	17.0	22.0	28.8	27.9	26.0	21.0	21.0	18.5	5.4	17.1
	平均 Average	0.9	5.4	10.8	19.2	23.4	27.0	27.0	26.4	21.6	18.0	12.8	4.37	16.4
年降水量 Precipitation/mm	2007	0	13.6	64.4	15.8	24.7	55.9	152.9	228.5	4.6	18.6	9.0	8.4	49.7
	2008	17.0	2.5	2.0	90.8	59.4	24.6	309.7	58.5	64.4	13.3	12.9	3.1	54.9
	2009	0	30.1	17.3	49.2	82.9	49.8	125.2	270.2	80.4	9.6	46.7	1.1	63.5
	平均 Average	5.7	15.4	27.9	51.9	55.67	43.4	195.9	185.7	49.8	13.8	22.9	4.2	56.0
日照时数 Sunlight/h	2007	126.1	117.3	139.8	215.6	234.9	162.3	125.3	149.7	151.6	90.5	144.6	89.5	145.6
	2008	73.1	168.3	191.5	190.0	227.8	165.2	115.1	147.7	127.3	138.5	150.1	156.0	154.2
	2009	135.5	50.5	165.6	191.2	210.8	247	156.2	153.1	105.7	166.6	144.3	93.8	151.7
	平均 Average	111.6	112.0	165.6	198.9	224.5	191.5	132.2	150.2	128.2	131.9	146.3	113.1	150.5

表 2 试验苜蓿品种的秋眠级和来源

Table 2 Fall dormancy classes and sources of alfalfa

品种 Variety	秋眠级 FD class	来源 Source	品种 Varieties	秋眠级 FD class	来源 Source
驯鹿 ACCarbou	1	Canada	赛特 Sitel	5	France
阿尔冈金 Algonquin	2	Canada	三得利 Sanditi	5	France
金皇后 Gold Empress	2~3	USA	德宝 Derby	5	France
WL-232HQ	2	USA	WL-414	6	USA
皇后 Alfaqueen	2	USA	猎人河 Hunter River	6	Australia
苜蓿王 Alfking	3	USA	盛世 Millennium	6	USA
皇后 2000 Empress 2000	3	USA	丰宝 Powerplant	7	USA
8925MF	3	Canada	赛迪 7 号 Sardi 7	7	Australia
皇冠 Phabulous	4	USA	WL-525HQ	8	USA
乐歌 Legacy	4	USA	四季旺 Siriver	8	USA
牧歌 401 AmeriGraze 401	4	USA	南霸天 Alfasuper	8	USA

1.2 试验材料 参试紫花苜蓿品种 22 个,其秋眠级和来源见表 2。

1.3 试验设计与田间管理 各品种均于 2009 年 3 月 15 日播种。采用随机区组设计,重复 3 次。每小区面积 3 m×3 m。播种行距 0.3 m,播种量为 15.5 kg·hm⁻²。常规田间管理,在苗期人工除草 2~3 次;生长期,在适当时期进行中耕除草,在 2009 年 6 月 15 日特别干旱时灌溉 1 次。分别于 2009 年 5 月 25 日(现蕾期)、6 月 10 日(开花期)、6 月 21 日(盛花期)和 7 月 1 日(成熟期)11:00—

14:00 各取样 1 次。4 次采样时期最高温度分别为 21、35、39 和 34 °C。

1.4 测定项目与方法

1.4.1 叶片相对含水量 取新鲜叶 5 片,从小叶基部剪下,称鲜质量(初始鲜质量)后迅速将其浸入蒸馏水中浸泡 5 h,然后取出,擦拭掉叶片表面多余水分并称取饱和鲜质量。经 105 °C 杀青 30 min 后,65 °C 下烘至质量恒定并称得干质量,按下式计算叶片相对含水量。

$$\text{相对含水量} = \frac{\text{初始鲜质量} - \text{干质量}}{\text{饱和鲜质量} - \text{干质量}} \times 100\%$$

1.4.2 电导率 取新鲜叶片,将其剪成 0.5 cm² 的小块,每个品种称取(0.100±0.005)g,放入含有 20 mL 蒸馏水的试管中,真空抽气到叶片沉底,静置 2 h 后用 DDS-320 型电导仪测定。然后沸水浴 15 min,冷却后静置 2 h 再次测定电导率并计算。

$$\text{叶片膜相对电导率} = \frac{\text{样品电导率}}{\text{沸水液电导率}} \times 100\%$$

1.4.3 可溶性蛋白含量 采用南京建成生物工程研究所提供的考马斯亮蓝试剂盒测定。

1.4.4 SOD 和 POD 活性 准确称取植物组织质量,按照质量(g)体积(mL)比 1:9 的比例加入生理盐水,制备成 10% 的组织匀浆,2 500 r·min⁻¹ 离心 10 min 后,取上清液按照南京建成生物工程研究所提供的试剂盒测定。

1.5 数据统计分析 试验数据采用 SPSS 11.5 软件中的单因素方差分析(One-way ANOVA)进

行,差异性显著用 S-N-K 进行多重比较,采用 Spearman 等级相关进行相关性分析,采用分层聚类(Hierarchical Cluster)进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 高温对紫花苜蓿各品种生理生化指标的影响

2.1.1 叶片相对含水量 不同紫花苜蓿品种其相对含水量有较大差异(表 3)。其中,第 1 次样品(5 月 25 日)中,以乐歌、皇冠和 8925MF 相对含水量最高,显著高于四季旺($P < 0.05$),但与其他品种差异不显著($P > 0.05$);第 2 次样品中,以乐歌最高,显著高于丰宝和南霸天,皇后 2000 和 8925MF 相对含水量也较高,但与大多数品种差异不显著;第 3 次(6 月 21 日)样品中,皇后 2000 相对含水量最高,分别比驯鹿和猎人河高 41% 和 32%,差异显著,乐歌、8925MF、皇冠、牧歌 401 相对含水量次之,但与 WL-232HQ 之间差异不显著;第 4 次样品(7 月 1 日)

表 3 不同苜蓿品种各采样期叶片的相对含水量

Table 3 Leaf relative water contents of different alfalfa varieties in four sampling date

品种 Variety	秋眠级 FD class	2009-05-25	2009-06-10	2009-06-21	2009-07-01
驯鹿 ACCarbou	1	82±6ab	72±3ab	56±8c	69±4ab
阿尔冈金 Algonquin	2	80±4ab	74±1ab	66±8abc	74±4ab
金皇后 Gold Empress	2~3	77±7ab	69±6ab	66±8abc	73±2ab
WL-232HQ	2	76±1ab	74±6ab	72±8abc	74±7ab
皇后 Alfaqueen	2	80±0ab	75±3ab	70±8abc	71±3ab
苜蓿王 Alfking	3	83±1ab	72±8ab	71±8abc	75±1ab
皇后 2000 Empress 2000	3	81±3ab	80±8ab	79±6a	77±1a
8925MF	3	84±2a	80±4ab	75±10ab	75±1ab
皇冠 Phabulous	4	84±7a	78±4ab	72±2abc	75±1ab
乐歌 Legacy	4	84±7a	83±5a	77±3ab	75±1ab
牧歌 401 AmeriGraze 401	4	83±4ab	74±4ab	72±5abc	68±5ab
赛特 Sitel	5	81±1ab	76±7ab	69±8abc	72±5ab
三得利 Sanditi	5	80±1ab	71±4ab	63±5abc	71±1ab
德宝 Derby	5	81±1ab	71±13ab	64±6abc	70±2ab
WL414	6	78±2ab	68±7ab	62±10abc	71±1ab
猎人河 Hunter River	6	77±4ab	72±4ab	60±12bc	69±3ab
盛世 Millennium	6	80±1ab	73±8ab	64±4abc	71±8ab
丰宝 Powerplant	7	78±4ab	65±1b	61±4abc	69±1ab
赛迪 7 号 Sardi 7	7	79±2ab	71±8ab	63±1abc	70±3ab
WL-525HQ	8	74±8ab	70±11ab	67±4abc	58±11c
四季旺 Siriver	8	70±14b	76±10ab	66±6abc	66±1bc
南霸天 Alfasuper	8	75±8ab	66±8b	63±4abc	71±2ab

注:表中同列数据标注不同小写字母差异显著($P < 0.05$)。表 4-7 同。

Note: Different lower case letters within the same column show significant difference at 0.05 level. The same in Table 4-7.

中,仍以皇后 2000 相对含水量最高,显著高于 WL-525HQ 和四季旺,与其他品种差异不显著。从以上结果可以看出,4 次测定中,以乐歌、皇后 2000 和 8925MF 相对含水量最大的频次最高,其次为皇冠;含水量最低的品种变化较大,第 1~4 次分别为猎人河、丰宝、驯鹿和 WL525-HQ,但大多数单次相对含水量低的品种其他次样品该含量也较低。同时可以看出,所有品种的叶片平均相对含水量在第 1 次取样时最高,为 79%,第 2 次、第 3 次依次下降,第 4 次又上升,呈现高一低一高的趋势。

2.1.2 电导率 随着温度的变化各品种相对电导率依次上升趋势均很明显(表 4),如驯鹿品种,第 2、3、4 次取样分别为第 1 次的 2.9、4.3 和 4.4 倍;WL-232HQ 品种,后 3 次分别相当于第 1 次的 3.0、3.4 和 3.9 倍。逆境初期各品种之间差异不显著($P>0.05$),随着温度的升高,不同苜蓿品种间的相对电导率差异性显著,其中第 2 次以 WL-232HQ 最高,显著高于($P<0.05$)苜蓿王、皇冠等 10 个品种,以 8925MF 最低;第 3 次样品以丰宝的相对电导率最

高,显著高于 8925MF、牧歌 401、皇冠和乐歌,与其他品种差异不显著;第 4 次以盛世、赛迪 7 号、三得利、驯鹿、德宝和南霸天相对电导率高,显著高于皇冠,与其他品种差异不显著。从 4 次相对电导率来看,趋势很不一致,其中,8925MF、皇冠、乐歌和牧歌 401 平均较好。

2.1.3 可溶性蛋白含量 5 月 25 日—6 月 21 日,各品种可溶性蛋白含量呈升高趋势,以后随着逆境胁迫时间的延长,可溶性蛋白含量下降(表 5)。不同温度条件下各品种差异性不同,第 1 次样品中,皇后 2000 和 8925MF 含量最高,显著高于 WL-525HQ ($P<0.05$),与其他品种差异不显著($P>0.05$);第 2 次样品中,皇后 2000 含量最高,显著高于德宝和 WL-525HQ,与其他品种之间差异不显著;第 3 次样品中,以乐歌含量最高,显著高于猎人河、赛迪 7 号和 WL414,与其他品种差异不显著;第 4 次测定中,以牧歌 401 表现最好,显著高于盛世。从 4 次各品种在不同高温下情况来看,以乐歌表现最好且最为稳定,其次为皇后 2000。

表 4 不同苜蓿品种各采样期的相对电导率

Table 4 Relative specific conductivity of different alfalfa varieties in four sampling date

%

品种 Variety	秋眠级 FD class	2009-05-25	2009-06-10	2009-06-21	2009-07-01
驯鹿 ACCarbou	1	10±3	29±9ab	43±4abc	44±5a
阿尔冈金 Algonquin	2	12±3	26±7abc	37±5abcd	40±3ab
金皇后 Gold Empress	2~3	9±3	25±4abc	42±2abcd	43±6ab
WL-232HQ	2	10±3	30±3a	34±11abcd	39±4ab
皇后 Alfaqueen	2	10±1	23±5abc	39±5abcd	42±4ab
苜蓿王 Alfking	3	7±1	20±4bc	32±2abcd	39±1ab
皇后 2000 Empress 2000	3	9±1	22±4abc	30±4bcd	33±13ab
8925MF	3	7±1	18±4c	28±4d	34±11ab
皇冠 Phabulous	4	8±3	20±4bc	31±4bcd	25±6b
乐歌 Legacy	4	7±3	18±6bc	31±6bcd	37±18ab
牧歌 401 AmeriGraze 401	4	7±2	18±3bc	28±3cd	33±17ab
赛特 Sitel	5	9±2	20±2bc	31±5bcd	42±5ab
三得利 Sanditi	5	8±3	20±2bc	39±4abcd	45±8a
德宝 Derby	5	9±3	19±3bc	36±3abcd	44±4a
WL414	6	9±2	19±4bc	40±11abcd	41±6ab
猎人河 Hunter River	6	8±4	19±2bc	34±13abcd	42±4ab
盛世 Millennium	6	10±1	26±6abc	39±6abcd	45±5a
丰宝 Powerplant	7	10±2	21±4abc	47±4a	42±2ab
赛迪 7 号 Sardi 7	7	10±6	21±4abc	37±7abcd	45±4a
WL-525HQ	8	10±3	23±4abc	35±8abcd	42±3ab
四季旺 Siriver	8	10±2	24±4abc	33±4abcd	37±3ab
南霸天 Alfasuper	8	12±3	27±2abc	44±6ab	43±3a

表5 不同苜蓿品种各采样期的可溶性蛋白含量

Table 5 Soluble protein contents of different alfalfa varieties in four sampling date

mg · g⁻¹

品种 Variety	休眠级 FD class	2009-05-25	2009-06-10	2009-06-21	2009-07-01
驯鹿 ACCarbou	1	0.33±0.03ab	0.37±0.01ab	0.60±0.14abc	0.43±0.01ab
阿尔冈金 Algonquin	2	0.33±0.05ab	0.34±0.05abc	0.44±0.01abc	0.46±0.01ab
金皇后 Gold Empress	2~3	0.28±0.01ab	0.31±0.02abc	0.57±0.08abc	0.48±0.01ab
WL-232HQ	2	0.28±0.06ab	0.32±0.04abc	0.53±0.05abc	0.46±0.01ab
皇后 Alfaqueen	2	0.28±0.01ab	0.33±0.04abc	0.56±0.01abc	0.41±0.01ab
苜蓿王 Alfking	3	0.33±0.03ab	0.38±0.11ab	0.57±0.01abc	0.52±0.05ab
皇后 2000 Empress 2000	3	0.36±0.06a	0.44±0.06a	0.55±0.04abc	0.46±0.01ab
8925MF	3	0.36±0.01a	0.38±0.03ab	0.57±0.02abc	0.49±0.07ab
皇冠 Phabulous	4	0.32±0.01ab	0.39±0.05ab	0.65±0.07ab	0.50±0.07ab
乐歌 Legacy	4	0.31±0.02ab	0.41±0.08ab	0.67±0.20a	0.45±0.21ab
牧歌 401 AmeriGraze 401	4	0.34±0.07ab	0.38±0.03ab	0.61±0.05abc	0.54±0.06a
赛特 Sitel	5	0.32±0.03ab	0.35±0.04abc	0.49±0.11abc	0.49±0.04ab
三得利 Sanditi	5	0.32±0.05ab	0.38±0.01ab	0.41±0.03abc	0.42±0.01ab
德宝 Derby	5	0.28±0.18ab	0.30±0.14bc	0.42±0.01abc	0.41±0.01ab
WL414	6	0.25±0.01ab	0.31±0.01abc	0.38±0.06bc	0.39±0.02ab
猎人河 Hunter River	6	0.33±0.04ab	0.34±0.04abc	0.36±0.21c	0.41±0.01ab
盛世 Millennium	6	0.31±0.02ab	0.32±0.03abc	0.46±0.08abc	0.37±0.19b
丰宝 Powerplant	7	0.27±0.05ab	0.33±0.05abc	0.51±0.03abc	0.43±0.03ab
赛迪 7号 Sardi 7	7	0.30±0.06ab	0.34±0.03abc	0.38±0.01bc	0.47±0.02ab
WL-525HQ	8	0.22±0.04b	0.23±0.04c	0.43±0.01abc	0.45±0.06ab
四季旺 Siriver	8	0.25±0.01ab	0.33±0.04abc	0.64±0.34ab	0.42±0.02ab
南霸天 Alfasuper	8	0.32±0.04ab	0.34±0.03abc	0.53±0.11abc	0.40±0.00ab

2.1.4 SOD 活性 大多数苜蓿品种不同采样时期 SOD 活性呈低—高一—低的趋势,5月25日—6月21日,SOD 活性依次上升,而后大多数品种下降,少数品种仍维持其较高水平(表6)。第2次样品中,8925MF 排在第1位,SOD 含量显著高于阿尔冈金和 WL414($P<0.05$),皇后 2000 次之,牧歌 401 和苜蓿王分别排在第3、4位;第3次样品中,牧歌 401 SOD 含量显著高于除苜蓿王、皇后 2000、8925MF、皇冠、乐歌外的其他品种;第4次样品中,牧歌 401 显著高于金皇后和 WL525HQ,与其他品种之间差异性显著。4次测定中,平均 SOD 活性较高的为牧歌 401、皇后 2000 和 8925MF,WL525HQ 等表现较差。

2.1.5 POD 活性 随着温度的升降,各品种 POD 活性变化规律和 SOD 基本相同。大多数品种在第3次温度最高时达到峰值,随后随着气温的下降而缓慢降低(表7)。第1次样品中,尽管各品种的

POD 活性无显著差异($P>0.05$),但以牧歌 401、8925MF、乐歌、皇冠和皇后 2000 较高;第2次样品中,皇冠 POD 活性最高,显著高于驯鹿、猎人河、丰宝、四季旺($P<0.05$),牧歌 401、乐歌、皇后 2000 次之,与皇冠之间差异不显著;第3次气温为采样期内最高温度,大多数品种之间 POD 活性差异显著,其中皇冠最高,极显著高于四季旺、南霸天、阿尔冈金等10个品种,8925MF、赛特次之,显著高于四季旺等7个品种;第4次样品中,以8925MF 含量最高,显著高于 WL-525HQ、南霸天和四季旺,与大多数品种差异不显著。从4次样品各品种 POD 活性来看,以皇冠、8925MF 和牧歌 401 较高,四季旺、南霸天较低。

2.2 参试紫花苜蓿品种抗热性层次聚类 将存在差异的22个苜蓿品种作为聚类对象,将对存在品种间差异并对紫花苜蓿耐热性产生影响的叶片相对含水量、电导率、可溶性蛋白含量、SOD 和 POD

表 6 不同苜蓿品种各采样期的 SOD 活性

Table 6 SOD activity of different alfalfa varieties in four sampling date

U · mg⁻¹

品种 Variety	休眠级 FD class	2009-05-25	2009-06-10	2009-06-21	2009-07-01
驯鹿 ACCarbou	1	47.81±3.69	71.88±3.80ab	87.24±7.40b	87.47±4.55ab
阿尔冈金 Algonquin	2	45.97±9.28	70.37±7.62b	100.22±26.13b	100.30±28.37ab
金皇后 Gold Empress	2~3	50.34±7.04	74.07±7.17ab	94.43±7.45b	61.44±12.05b
WL-232HQ	2	52.44±6.28	79.66±14.18ab	93.19±13.12b	79.14±29.47ab
皇后 Alfaqueen	2	46.79±9.43	71.97±5.27ab	80.01±7.67b	87.78±17.09ab
苜蓿王 Alfking	3	52.58±15.3	89.19±14.84ab	103.54±41.15ab	94.19±6.36ab
皇后 2000 Empress 2000	3	51.45±8.15	92.62±8.44ab	103.37±3.33ab	91.00±15.56ab
8925MF	3	53.16±6.31	93.53±6.46a	104.46±8.15ab	104.53±10.57ab
皇冠 Phabulous	4	56.12±5.31	86.02±4.77ab	112.17±11.58ab	110.87±17.15ab
乐歌 Legacy	4	58.77±12.06	87.25±2.48ab	106.80±34.74ab	107.35±39.11ab
牧歌 401 AmeriGraze 401	4	50.79±7.34	89.92±8.16ab	150.73±57.65a	122.87±46.85a
赛特 Sitel	5	61.67±16.96	79.84±14.37ab	91.77±9.38b	89.68±19.85ab
三得利 Sanditi	5	50.53±4.07	76.73±2.88ab	94.56±6.24b	93.59±5.59ab
德宝 Derby	5	48.35±8.49	73.36±4.80ab	85.97±8.08b	81.97±13.54ab
WL414	6	40.58±8.03	70.44±1.68b	84.87±6.82b	74.36±20.10ab
猎人河 Hunter River	6	40.96±6.09	73.98±7.54ab	89.59±19.42b	79.69±21.98ab
盛世 Millennium	6	42.16±20.13	75.23±3.84ab	82.47±3.95b	84.09±22.30ab
丰宝 Powerplant	7	46.81±9.45	72.94±26.40ab	87.83±11.94b	87.07±9.80ab
赛迪 7 号 Sardi 7	7	48.75±6.51	82.27±5.69ab	96.04±37.41b	75.92±22.97ab
WL-525HQ	8	49.63±14.64	74.50±7.59ab	78.41±3.84b	69.65±14.15b
四季旺 Siriver	8	43.66±3.47	72.07±3.08ab	72.05±8.78b	73.90±7.98ab
南霸天 Alfasuper	8	43.99±3.13	72.90±4.67ab	75.01±19.86b	75.28±7.50ab

活性指标作为变量,采用类间平均法进行聚类分析,可将其聚为 3 类,其中赛特、德宝、皇冠、皇后 2000、8925MF、金皇后、WL414 为耐热类,各项生理指标总体较佳,耐热性最好;赛迪 7 号、南霸天、丰宝、WL-525HQ、阿尔冈金、猎人河、苜蓿王、牧歌 401、四季旺为中等耐热类;乐歌、盛世、皇后、三得利、驯鹿、WL-232HQ 耐热性较差类(图 1)。

2.3 休眠级与抗热性指标之间的相关分析

休眠级与相对含水量呈极显著负相关($P < 0.01$),与可溶性蛋白含量、POD 活性呈显著负相关($P < 0.05$),与 SOD 活性、电导率分别呈负相关和正相关关系,但均未达到显著水平($P > 0.05$)(表 8)。对苜蓿品种各抗热性指标之间的分析表明,相对含水量与可溶性蛋白、SOD 活性和 POD 活性呈极显著正相关,电导率与可溶性蛋白、SOD、POD 活性均呈极显著负相关,可溶性蛋白与 SOD、POD 活性呈极显著正相关关系,SOD 活性与 POD 活性之间呈极显

著正相关关系。

3 讨论

高温引起强烈的蒸腾作用,致使植物失水,细胞膜液化,膜蛋白变性,引起质膜结构改变,使质膜的电解质渗透率增加,膜的稳定性变差^[8-11]。抗逆性强的植物能维持较高的相对含水量,水分得到补充后能迅速恢复生长,细胞受损较轻^[12-13],膜的热稳定性强^[14]。赵昕和李玉霖^[8]、杜建雄等^[13]分别对 5 个草坪草品种进行热胁迫,发现随着温度的升高和胁迫时间的延长,其相对含水量均呈下降趋势,当温度升高到一定程度时,膜蛋白会凝聚和变性,膜结构失去活性,膜对细胞内外物质交换和控制能力逐渐丧失,使外渗液急剧增加,导致电导率升高。可溶性蛋白具有较强的亲水能力,在逆境条件下大量产生,能够明显增加细胞亲水力、束缚水含量以及原生质的弹性,通过保护细胞膜的表面来调节细胞与外界渗透压的平衡,从而缓解对植物的伤害^[15-16],其含量是

表7 不同苜蓿品种各采样期的 POD 活性

Table 7 POD activity of different alfalfa varieties in four sampling date

U · mg⁻¹

品种 Variety	秋眠级 FD class	2009-05-25	2009-06-10	2009-06-21	2009-07-01
驯鹿 ACCarbou	1	9.82±0.43	10.90±0.93b	18.91±3.32cde	19.14±1.39abc
阿尔冈金 Algonquin	2	9.07±1.67	11.99±1.78ab	18.25±0.95de	19.51±1.34abc
金皇后 Gold Empress	2~3	10.55±2.56	13.79±0.73ab	19.04±1.43cde	18.85±0.39abc
WL-232HQ	2	10.32±0.91	13.63±5.13ab	21.94±3.20bcde	18.10±9.76abc
皇后 Alfaqueen	2	10.78±0.74	14.33±6.12ab	17.50±3.53de	15.69±6.54abc
苜蓿王 Alfking	3	11.02±1.88	14.79±1.19ab	21.77±2.47bcde	14.90±6.65abc
皇后 2000 Empress 2000	3	11.87±1.89	16.73±1.26ab	24.83±5.41abcd	19.85±1.63abc
8925MF	3	12.76±2.04	13.97±5.16ab	26.44±0.13ab	23.96±0.39a
皇冠 Phabulous	4	12.27±3.24	21.51±4.11a	29.92±1.00a	19.22±9.09abc
乐歌 Legacy	4	12.58±0.03	16.52±1.03ab	21.52±0.75bcde	19.65±1.22abc
牧歌 401 AmeriGraze 401	4	13.14±1.67	17.06±5.89ab	23.21±2.89abcde	22.15±0.48ab
赛特 Sitel	5	11.44±1.68	12.76±2.63ab	26.02±1.90abc	22.61±3.89ab
三得利 Sanditi	5	9.57±1.52	13.84±1.18 ab	21.59±2.81bcde	19.15±1.48abc
德宝 Derby	5	9.69±2.18	16.01±8.69ab	22.00±2.11bcde	17.93±2.78abc
WL414	6	9.35±4.17	12.58±7.28ab	18.42±2.91de	19.37±0.71abc
猎人河 Hunter River	6	8.78±2.24	10.55±1.55b	18.21±2.60de	15.21±6.94abc
盛世 Millennium	6	9.09±1.61	11.69±2.16ab	18.98±1.80cde	15.53±5.95abc
丰宝 Powerplant	7	9.00±1.61	9.43±2.26b	19.15±1.47bcde	17.75±1.12abc
赛迪 7号 Sardi 7	7	8.76±1.56	13.36±2.48ab	19.68±3.39bcde	15.76±6.44abc
WL-525HQ	8	8.67±1.57	13.56±5.48ab	18.46±2.72de	10.58±0.46bc
四季旺 Siriver	8	8.84±1.21	9.87±0.47b	16.41±6.21e	12.80±3.39bc
南霸天 Alfsuper	8	9.71±0.04	12.59±5.56ab	16.55±5.23e	12.21±2.80c

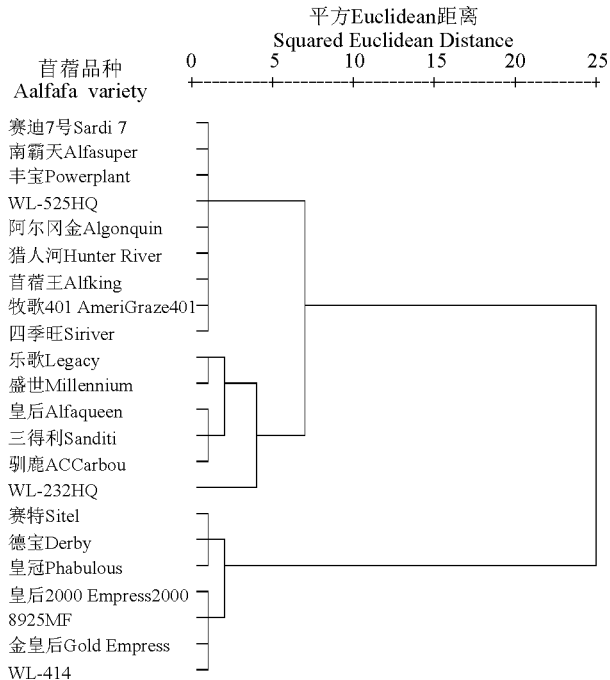


图1 22个紫花苜蓿品种层次聚类图

Fig. 1 Cluster analysis of 22 varieties of alfalfa

植物体内代谢过程中蛋白质损伤的重要指标。谭晓蓉等^[17]在对小麦(*Triticum aestivum*)干旱胁迫的研究中证实,轻度胁迫下可溶性蛋白含量上升,随着胁迫程度加深,原生质的破坏加重,其含量会有所下降,但复水后,其含量会有所上升。本研究中,随着温度的升高,叶片相对含水量逐渐降低,电导率升高,可溶性蛋白含量缓慢增加。在6月下旬至7月上旬降水量增大、土壤含水量增加的情况下,植物叶片失水状况得到缓解^[18-19],这与孟林等^[20]在17个苜蓿品种苗期抗旱性研究中得到的结果一致。随着生育期的延长和植物对逆境的适应,各品种可溶性蛋白含量维持在一定水平^[21-24]。

大量试验表明,SOD和POD作为重要的自由基清除酶,对植物起着重要的保护作用^[25-27]。谢亚军等^[28]对甘草(*Glycyrrhiza* spp.)在干旱胁迫下保护酶活性的变化进行了研究,结果表明,随着胁迫程度的加剧,植物体内SOD、POD活性先升后降,与体内氧自由基的变化趋势一致。田婷婷等^[29]的研究表明,高温胁迫下,豇豆(*Vigna unguiculata*)幼苗

表 8 参试苜蓿品种的秋眠级与抗热性指标的相关分析

Table 8 Correlation analysis between the FD class and the heat resistance index

项目 Item	秋眠级 FD	相对含水量 Relative water content	电导率 Conductivity	可溶性蛋白 Soluble protein	SOD	POD
秋眠级 FD class	1.000					
相对含水量 Relative water content	-0.564**	1.000				
电导率 Conductivity	0.138	-0.714**	1.000			
可溶性蛋白 Soluble protein	-0.512*	0.746**	-0.587**	1.000		
SOD	-0.405	0.754**	-0.777**	0.777**	1.000	
POD	-0.490*	0.812**	-0.747**	0.673**	0.838**	1.000

注: * 和 ** 表示显著 ($P < 0.05$) 和极显著 ($P < 0.01$) 相关。

Note: * and ** show significant correlation at 0.05 and 0.01 level, respectively.

叶片 SOD、POD 活性呈现先上升后下降的变化趋势,本研究与其结果一致。在 Almeselmani 等^[30]对小麦的研究中也证实了这一结果。说明在逆境胁迫导致植物体内活性氧自由基增加、膜脂质过氧化作用加强的同时,植物体内保护酶防御系统可以被有效地调动以清除和防御自由基的伤害,且抗逆性强的品种其活性随着逆境程度的增加而相对增加,当植物在逆境中逐渐产生适应性时,其活性会有所下降。这与周智彬等^[25]在 3 种固沙植物上的研究结果一致。

高温干旱胁迫下,紫花苜蓿蒸腾作用加强,叶片相对含水量下降,导致细胞内液外渗,电导率升高,产生大量可溶性蛋白,以维持原生质膜形态和功能,同时,体内自由基的过量促使保护酶防御系统被调动,SOD、POD 活性增强。各指标之间存在显著相关关系,可以用于推测不同紫花苜蓿品种的抗热性。

张鹤山等^[4]对 19 个紫花苜蓿品种的耐热性进行了比较,结果发现,皇后 2000 属于强耐热品种,丰宝、三得利、盛世耐热性较强,WL414、游客和赛特属于中等耐热品种,除丰宝外,本研究结果与其基本一致,表现为低秋眠级和中秋眠级苜蓿品种抗热能力较强,这主要是因为秋眠级数低的苜蓿品种主根发育能力强,侧根数目多,抗逆性强,品种适应能力强^[31]。安渊等^[32]在上海地区对非秋眠和半秋眠紫花苜蓿的生长规律和再生性进行了研究,发现无论是秋眠品种还是非秋眠品种都不适宜在持续的高温下生长,但非秋眠品种的耐热能力高于半秋眠品种^[33-34];徐斌等^[35]在对中国苜蓿综合气候区划研究中推测,盛世、丰宝、南霸天和猎人河适合种植在高温高湿条件下。在本研究春播和高温干旱的条件

下,上述品种的综合表现并不好,属于中等抗热和不抗热类型,半秋眠品种抗热性表现较好。这可能是由于南方为高温高湿条件,北方为干旱高温条件,结果可能不同;同时可能由于侧根是苜蓿吸收水分的主要部位^[36-37],而非秋眠性苜蓿根颈小而浅,侧根、须根少^[38-41],不利于在干旱的环境条件下吸收利用地下水分所致。

在本研究中,通过对秋眠级与各抗热性指标的相关性分析可知,秋眠级与相对含水量呈极显著负相关关系,与可溶性蛋白含量和 POD 活性呈显著负相关关系,说明秋眠级与抗热性呈负相关关系,这与他人研究结果不一致^[31-33],除因秋眠型苜蓿具有较多的侧根,且主根发育能力强具有强的吸收能力外,具体原因有待于进一步深入研究。

4 结论

随着温度的升高,紫花苜蓿叶片相对含水量逐渐下降,抗逆性强的品种能维持较高的含量;可溶性蛋白含量、SOD 和 POD 活性随温度的增加而升高,而后下降说明随着逆境时间及生育期的延长,植物体内逐渐产生生理适应性。而电导率在整个试验过程中由于膜的伤害不能及时修复而呈现逐渐升高的趋势,从总体规律上看,各指标在温度为 37 °C 时开始遭受热胁迫,表现出差异性,除电导率外各指标在温度为 39 °C 达到最高或者最低值。

不同品种抗热性生理指标之间差异较大。通过聚类分析可知,赛特、德宝、皇冠、皇后 2000、8925MF、金皇后、WL414 属抗热性强品种;赛迪 7 号、南霸天、丰宝、WL-525HQ、阿尔冈金、猎人河、苜蓿王、牧歌 401 和四季旺为中等抗热品种;其余参

试品种为抗热较差品种。

不同秋眠级紫花苜蓿品种之间抗热性不同,秋眠型和半秋眠型苜蓿抗热性较强。另外,本研究还表明,相对含水量、电导率、可溶性蛋白含量、SOD活性和POD活性可以作为紫花苜蓿抗热性评价指标。

参考文献

- [1] 刘瑞峰,张新全,刘金平. 四川省亚热带湿润气候区紫花苜蓿的生产特点[J]. 草原与草坪,2006(4):67-68.
- [2] 李明凤,李平,王成章,等. 不同秋眠级紫花苜蓿品种的生产性能在郑州地区的表现[J]. 草业科学,2008,25(6):45-49.
- [3] 罗旭辉,李春燕,应朝阳,等. 福建中亚热带区紫花苜蓿的引种筛选研究[J]. 草业科学,2007,24(1):32-33.
- [4] 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):19-20.
- [5] 康玉凡,胡跃高,苏加楷,等. 紫花苜蓿耐热性研究现状及展望[J]. 草业科学,2004(增刊):490-494.
- [6] 姜义宝,杨玉荣,王成章. 高温胁迫下苜蓿生理生化特性研究[J]. 科学技术与工程,2007,7(5):821-822.
- [7] 李髓哲,于卓,孙祥,等. 苜蓿品种间苗期抗热性差异的研究[J]. 内蒙古农牧学院学报,1994,15(4):54-58.
- [8] 赵昕,李玉霖. 高温胁迫下冷地型草坪草几项生理指标的变化特征[J]. 草业学报,2001,10(4):86-91.
- [9] Cakmak I, Hoist W J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, carcase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*) [J]. *Physiologia Plantarum*,1991,83:463-468.
- [10] Bajji M, Kinet J M, Lutts S. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat[J]. *Plant Growth Regulation*,2002,36:61-70.
- [11] Martineau J R, Specht J E. Temperature tolerance in soybean[J]. *Crop Science*,1979,19:75-81.
- [12] 云锦凤,高卫华. 四种冰草属牧草苗期抗旱性研究[J]. 中国草地,1991(增刊):1-7.
- [13] 杜建雄,孙吉雄,刘金荣,等. 5个草地早熟禾品种在干热胁迫下的生理响应[J]. 草原与草坪,2007(3):41-44.
- [14] Marcum K B. Cell membrane thermo stability and whole-plant heat tolerance of Kentucky Bluegrass[J]. *Crop Science*,1998,38:1214-1218.
- [15] 袁有波,李继新,丁福章,等. 干旱胁迫对烤烟叶片脯氨酸和可溶性蛋白含量的影响[J]. 安徽农业科学,2008,36(21):8891-8892.
- [16] 何云,李贤伟,李西,等. 2种野生岩生植物叶片可溶性蛋白含量对低温胁迫的响应[J]. 安徽农业科学,2008,36(18):7552-7553.
- [17] 谭晓荣,胡韬纲,戴媛,等. 不同干旱方式对小麦幼苗可溶性蛋白含量及总抗氧化力的影响[J]. 河南工业大学学报(自然科学版),2008,29(1):42-46.
- [18] 郑敏娜,李向林,万里强,等. 四种暖季型禾草对水分胁迫的生理响应[J]. 中国农学通报,2009,25(9):114-119.
- [19] 王玉涛,李吉跃,张雪海,等. 干旱胁迫对不同种源沙柳苗木水势和水分利用效率的影响[J]. 广东林业科技,2008,24(1):26-31.
- [20] 孟林,毛培春,张国芳,等. 17个苜蓿品种苗期抗旱性鉴定[J]. 草业科学,2008,25(1):21-25.
- [21] 梁国玲,周青平,颜红波,等. 羊茅属4种牧草苗期抗旱性鉴定[J]. 草地学报,2009,17(2):206-212.
- [22] 李崇巍. 不同苜蓿品种抗逆性研究及评价[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2002.
- [23] Wang Z, Huang B. Physiological recovery of Kentucky bluegrass from simultaneous drought and heat stress [J]. *Crop Science*,2004,44:1729-1736.
- [24] 史莹华,张伟毅,于晓丹,等. 光周期对紫花苜蓿SOD、POD活性的影响[J]. 草原与草坪,2009(1):74-76.
- [25] 周智彬,徐新文,杨兰英,等. 三种固沙植物对高温胁迫的生理响应及其抗热性研究[J]. 干旱区地理,2005,28(6):825-827.
- [26] 谢晓蓉,李唯刘,刘金荣,等. 21个高羊茅品种抗旱抗热性的生理评价[J]. 草地学报,2009,17(2):202-205.
- [27] 梁金凤,安渊. 喷施6-BA对紫花苜蓿耐热性的影响[J]. 中国草地学报,2006,28(4):39-42.
- [28] 谢亚军,王兵,梁新华,等. 干旱胁迫对甘草幼苗活性氧代谢及保护酶活性的影响[J]. 农业科学研究,2008,29(4):21-22.
- [29] 田婷婷,张兴国,周小全,等. 高温胁迫对之豉28-2幼苗叶片细胞膜透性和保护酶活性的影响[J]. 西南师范大学学报(自然科学版),2008,33(3):73-75.
- [30] Almeselmani M, Deshmukh P, Sairam R, et al. Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress[J]. *Plant Science*,2006,171(3):382-388.
- [31] 史纪安,刘玉华,韩清芳,等. 不同秋眠级数的紫花苜蓿品种根系发育能力研究[J]. 西北农业学报,2009,18(4):149-154.
- [32] 安渊,胡雪华,陈凡毅,等. 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.
- [33] 戚秋慧. 内蒙古典型草原禾本科牧草生态适应性综合评价[J]. 草地学报, 1998, 6(2): 133-138.
- [34] 周孜, 李先芳. 九种牧草在西夏峡县的适应性试验初报[J]. 河南农业科技, 1994(1): 36-39.
- [35] 徐斌, 杨秀春, 白可喻, 等. 中国苜蓿综合气候区划研究[J]. 草地学报, 2007, 15(4): 316-321.
- [36] 韩清芳, 吴新卫, 贾志宽, 等. 不同秋眠级数苜蓿品种根颈变化特征分析[J]. 草业学报, 2008, 17(4): 85-91.
- [37] 吴新卫, 韩清芳, 贾志宽, 等. 不同秋眠级数苜蓿品种吸水规律研究[J]. 华北农学报, 2007, 22(3): 88-92.
- [38] 何云, 刘圉炜, 王成章, 等. 苜蓿秋眠性研究进展[J]. 草业科学, 2005, 22(11): 25-28.
- [39] Johnson L D, Marque-Ortiz J J, Lamb J F S, *et al.* Root morphology of alfalfa plant introductions and cultivars[J]. Crop Science, 1998, 38: 497-502.
- [40] 邓蓉, 向清华, 陈武, 等. 紫花苜蓿秋眠性的研究[J]. 草业科学, 2005, 22(2): 41-44.
- [41] Gaver S. Alfalfa Root Studies[M]. USDA Bull: Washington D C. U. S. GOV. Print Office, 1922: 1087.

Evaluation of physiological and biochemical response of alfalfa cultivars during summer

ZHANG Xiao-xia^{1,2}, GAO Yong-ge³, ZHENG Chun-lei²,
WANG Cheng-zhang¹, WANG Yan-hua²

(1. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2. The Forage and Feed Station of Henan Province, Zhengzhou 450008, China;

3. Dairy Management Office of Animal Husbandry Bureau of Henan Province, Zhengzhou 450008, China)

Abstract: High temperature induces a series of responses in physiology and morphology. In order to study this changes, 22 alfalfa (*Medicago sativa*) varieties were used to measure the contents of relative water content, soluble protein, relative electrical conductivity, and the activity of superoxide dismutase and peroxidase under different natural temperature in the summer. A randomized complete block design was conducted with three replicates. Using the method of cluster analysis, the heat resistance of these varieties were preliminarily evaluated. The results showed that, 1) the four indicators except the relative electrical conductivity, increased as the temperature progressed from 25 May to 21 June, and then dropped as the temperature dropped. However, the relative electrical conductivity increased by 3.36 times gradually; 2) in this study, 22 alfalfa varieties were divided into three types by hierarchical clustering, which are strong heat-resistance type, weak heat-resistance varieties and intermediate type, respectively. The varieties of heat-resistant type included Sitel, followed Derby, Phabulous, Empress 2000, 8925MF, Gold Empress and WL-414, while the intermediate heat-resistant varieties were Sardi 7, Alfasuper, Powerplant, WL-525HQ, Algonquin, Hunter River, Alfking, AmeriGraze401 and Siriver. The other varieties were weak heat-resistant varieties; 3) there was very significant negatively correlation ($P < 0.01$) between FD class and relative water content. There were significant negatively correlations ($P < 0.05$) between FD class and soluble protein content, and FD class and POD activity. The relationships between FD class and the conductivity or FD class and SOD activity were not significant ($P > 0.05$). The correlation coefficient were 0.138 and -0.405 . There were significant correlations among different indicators ($P < 0.01$).

Key words: high temperature; fall dormancy; electrical conductivity; SOD; POD

Corresponding author: WANG Cheng-zhang E-mail: wangchengzhang@263.net