

23份多花黑麦草萌发期抗旱性评价

程少波²,杨巽喆²,邹丽²,吴丹丹^{2,3},
陆佳乐^{1,3},周永红^{2,3},张海琴^{1,3}

(1. 四川农业大学草业科技学院,四川 成都 611130;2. 四川农业大学小麦研究所,四川 成都 611130;
3. 西南作物基因资源发掘与利用国家重点实验室,四川 成都 611130)

摘要:为探究不同倍性多花黑麦草的抗旱能力,同时筛选优异种质资源,以23份不同倍性多花黑麦草为材料,在PEG-6000模拟干旱条件下进行种子萌发期抗旱性评价,测定相对胚根长、相对胚芽长、相对发芽率等6项萌发生长指标,结合隶属函数分析、主成分分析和聚类分析对其抗旱性进行综合评价。结果表明:干旱处理下,四倍体多花黑麦草的根长和芽长均高于二倍体,分别高1.79倍和1.26倍。主成分分析表明:活力指数和根长分别为萌发因子和根部生长因子中的主要成分,载荷量分别为0.924和0.743。23份材料的D值变化范围为0.117~0.946,材料PI 238886的D值最低,PI 343155的D值最高。对D值进行聚类分析,筛选出四倍体抗旱材料5份(PI 343155、特高、929-3、川农1号、PI 619469),二倍体抗旱材料5份(PI 266111、PI 283610、PI 619471、PI 634251、W6 9271),中等材料9份,干旱敏感材料4份。

关键词:多花黑麦草;萌发期;抗旱性评价;PEG-6000

中图分类号:S543+.6 **文献标志码:**A

Drought resistance evaluation of 23 ryegrass germplasms at germination stage

CHENG Shaobo², YANG Xunzhe², ZOU Li², WU Dandan^{2,3},
LU Jiale^{1,3}, ZHOU Yonghong^{2,3}, ZHANG Haiqin^{1,3}

(1. College of Grassland Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130, China;
2. Triticeae Research Institute, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130, China;
3. State Key Laboratory of Crop Gene Exploration and Utilization in Southwest China, Sichuan
Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130, China)

Abstract: To explore the drought resistance ability of different ploidy ryegrass (*Lolium multiflorum*) and screen excellent germplasm resources, 23 ryegrass germplasms were used to evaluate drought resistance during seed germination under PEG-6000 simulated drought conditions in this study. Six indexes, such as relative root length, relative shoot length, and relative germination rate were measured. The drought tolerance of ryegrass was comprehensively evaluated by membership function analysis, principal component analysis and cluster analysis. The results showed that the root length and shoot length of tetraploid ryegrass were 1.79 times and 1.26 times higher than that of diploid ryegrass under drought treatment, respectively. Principal component analysis showed that vigor index and root length were the main components of germination factor and root growth factor, respectively, and the loading capacity was 0.924 and 0.743, respectively. The D value of 23 materials ranged from 0.117 to 0.946, among which the D value of PI 238886 was the lowest while that of PI 343155 was the highest. Five tetraploid drought resistant materials (PI 343155, Tetragold, 929-3, Chuannong No.1, PI 619469) and five diploid drought resistant materials (PI 266111, PI 283610, PI 619471, PI 634251, W6 9271) were selected by cluster analysis. Nine medium

收稿日期:2021-06-09

修回日期:2022-01-16

基金项目:国家自然科学基金项目(31870309);四川省科技厅农业科技成果转化项目(2021NZZJ0010);四川省阿坝州科技局项目(R21YYJSYJ0014)

作者简介:程少波(1995-),男,山西长治人,硕士研究生,研究方向为牧草资源评价与利用。E-mail:1426655613@qq.com

通信作者:张海琴(1977-),女,浙江浦江人,博士研究生,教授,主要从事植物资源评价与利用研究。E-mail:haiqinzhang@163.com

and 4 drought sensitive materials were also identified in this study.

Keywords: ryegrass; *Lolium multiflorum*; germination stage; drought resistance evaluation; PEG-6000

多花黑麦草(*Lolium multiflorum* Lamk.), 又称一年生黑麦草、意大利黑麦草, 是禾本科黑麦草属的一种优良冷季型牧草, 广泛分布于欧洲、亚洲、非洲和南美洲, 具有高质优产、生长迅速、适口性好等特点, 是我国南方冬季畜牧业应用的首选牧草之一^[1]。多花黑麦草有二倍体($2n=2x=14$)和四倍体($2n=4x=28$)两种倍性, 在自然条件下均为二倍体^[2]。二倍体多花黑麦草拥有许多优良的抗逆基因, 且干物质含量高, 而四倍体多花黑麦草具植株高大、茎秆粗壮、叶量丰富等优异牧草性状, 因此目前生产上推广使用的多为四倍体^[3]。

干旱是影响植物生长和发育的主要非生物胁迫之一, 因此牧草的抗旱性鉴定是选育抗旱品种的关键^[4-8]。目前, 关于不同干旱胁迫条件下黑麦草的生理生化变化研究已有大量报道。PAN 等^[9]以邦德和阿德纳两份四倍体多花黑麦草材料进行短期干旱处理, 结果表明邦德的抗旱性要强于阿德纳。谢宏伟等^[10]对 13 份不同用途的黑麦草进行干旱处理, 筛选出沃土、剑宝、特高、俄勒冈和抗锈王等抗旱性强的一年生黑麦草品种, 但顶峰和冬绿等品种抗旱性较弱。赵俊茗等^[11]以抗旱性较强的一年生黑麦草特高为材料进行干旱处理, 发现外源施加壳聚糖可以缓解干旱对黑麦草的影响。赵春程

等^[12]以 4 个多年生黑麦草进行了苗期抗旱性鉴定, 表明 Pr521 的抗旱性强于其他 3 份材料。石永红等^[13]以隶属函数分析法对黑麦草进行了苗期抗旱性评价, 表明欧必克的抗旱性最强。上述对多花黑麦草的抗旱性研究多集中在苗期单一方法的评价, 并未以主成分分析和加权隶属函数法相结合对多花黑麦草进行萌发期抗旱性综合评价, 且商业品种与种质材料的抗旱性差异研究相对较少。为探讨不同倍性多花黑麦草抗旱水平差异, 本研究采用不同浓度 PEG-6000 对来自国外各地区和国内主要引进品种及本课题组多年选育的新品系等 23 份不同倍性的多花黑麦草进行种子萌发期模拟干旱处理, 对其抗旱性进行评价, 旨在筛选抗旱性强的多花黑麦草种质, 为抗旱性品种的选育提供材料基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

来自世界不同国家的 23 份(9 份四倍体和 14 份二倍体)多花黑麦草用于抗旱评价, 其中包括 16 份品种(系), 2 份野生材料, 1 份地方品种及 4 份未知类型材料, 材料信息见表 1。PI 编号材料由美国国家植物种质资源库(National Plant Germplasm System, Pullman, Washington, USA)提供。

表 1 供试材料

Table 1 Materials used in this study

编号 No.	材料编号 Accession No.	倍性 Ploidy	来源 Origin	材料类型 Type
1	PI 238886	2x	法国 France	品种 cv. Rita
2	PI 255172	2x	波兰 Poland	品种 cv. Skzeszowicki
3	PI 266111	2x	乌拉圭 Uruguay	品种 cv. LA Estanzula
4	PI 272119	2x	波兰 Poland	品种 cv. Westaroldicum Jasicki
5	PI 283610	2x	瑞典 Sweden	未知类型 Unknown
6	PI 478508	2x	厄瓜多尔 Ecuador	地方品种 Landrace
7	PI 517948	2x	美国 U.S.A	品种 cv. Tift 86
8	PI 598939	2x	意大利 Italy	野生材料 Wild material
9	PI 619471	2x	法国 France	品种 cv. Fastyl
10	PI 619472	2x	法国 France	品种 cv. Energyl
11	PI 619473	2x	法国 France	品种 cv. Vertyl
12	PI 634251	2x	美国 U.S.A	未知类型 Unknown
13	PI 648355	2x	未知 Unknown	未知类型 Unknown
14	W ₆ 9271	2x	比利时 Belgium	野生材料 Wild material
15	PI 343155	4x	埃及 Egypt	未知类型 Unknown
16	PI 619469	4x	法国 France	品种 cv. Idyl
17	剑宝 Jumbo	4x	百绿集团 BARENBRUG	引进品种 Introduced varieties
18	特高 Tetragold	4x	百绿集团 BARENBRUG	引进品种 Introduced varieties
19	达伯瑞 Double Barrel	4x	丹农种子 DLF-TRIFOLIUM	引进品种 Introduced varieties
20	邦德 Abundant	4x	丹农种子 DLF-TRIFOLIUM	引进品种 Introduced varieties
21	川农 1 号 Chuannong No.1	4x	四川农业大学 Sichuan Agricultural University	育成品种 Bred varieties
22	川饲 1 号 Chuansi No.1	4x	四川农业大学 Sichuan Agricultural University	新品系 New line
23	929-3	4x	四川农业大学 Sichuan Agricultural University	新品系 New line

1.2 试验方法

设置5种不同浓度的PEG溶液(3%,6%,9%,12%,15%)对23份多花黑麦草进行干旱处理。选取籽粒饱满的种子用15%的NaClO消毒5min,用超纯水冲洗5次,挑选30粒种子放于铺有两层滤纸的培养皿中,将3ml不同浓度的PEG溶液及蒸馏水(CK)注入培养皿中。每个处理3次重复。将培养皿放于温室(温度为22℃,光照周期16h·d⁻¹)中培养8d,每天补充溶液以维持水势的相对稳定^[14]。

1.3 测定指标及方法

每天统计种子的萌发情况,以胚芽长度达到种子长度的一半(约0.5cm)作为萌发标准。第8天萌发结束后,每个处理挑选出10株长势一致的幼苗用于测定胚根长RL(Root length)和胚芽长SL(Shoot length),其他指标按照以下公式计算^[15-16]:

$$\text{发芽率}(GR) = \frac{\text{第8天发芽种子数}}{\text{供试种子数}} \times 100\%$$

$$\text{发芽势}(GE) = \frac{\text{第4天发芽种子数}}{\text{供试种子数}} \times 100\%$$

$$\text{发芽指数}(GI) = \sum \left(\frac{G_t}{D_t} \right) \times 100\%$$

$$\text{活力指数}(VI) = GI \times S$$

$$\text{抗旱系数}(DC) = \frac{\text{PEG胁迫下的测定值}}{\text{对照下的测定值}}$$

式中, G_t 为第 t 日的发芽数, D_t 为相对应的发芽时间, S 为胚根长。为消除不同材料之间的差异,用抗旱系数来表示各个指标,如RRL(Relative root length)为胚根长的抗旱系数。

1.4 数据处理及分析

1.4.1 加权隶属函数分析^[17-21]

$$\bar{X}_j = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_{ij} \quad (1)$$

X_{ij} 为不同PEG浓度下的抗旱系数, X_j 为平均抗旱系数。 $ARRL$ (Average relative root length)为平均相对胚根长, $ARSL$ (Average relative shoot length)为平均相对胚芽长, $ARGR$ (Average relative germination rate)为平均相对发芽率, $ARGE$ (Average relative germination energy)为平均相对发芽势, $ARGI$ (Average relative germination index)为平均相对发芽指数, $ARVI$ (Average relative vigor index)为平均相对活力指数。

$$F(X_j) = a_{1j} \cdot X_{1j} + a_{2j} \cdot X_{2j} + \dots + a_{kj} \cdot X_{kj} \quad (k=1,2,\dots,n) \quad (2)$$

$F(X_j)$ 为综合指标的得分, a_{ij} 为特征向量, X_{kj} 为每个指标经标准化处理后的值。

$$W_j = \frac{P_j}{\sum_{j=1}^n P_j} \quad (j=1,2,\dots,n) \quad (3)$$

W_j 表示第 j 个综合指标的权重, P_j 为主成分分析后第 j 个指标的综合贡献率。

$$\mu = \frac{(X_i - X_{i\min})}{(X_{i\max} - X_{i\min})} \quad (4)$$

μ 为综合指标的隶属函数值, $X_{i\min}$ 为第 i 个综合指标的最小值, $X_{i\max}$ 为第 i 个综合指标的最大值。

$$D = \sum_{j=1}^n [\mu(X_j) \times W_j] \quad (j=1,2,\dots,n) \quad (5)$$

D 值为不同品种多花黑麦草的抗旱能力综合评价。

1.4.2 数据处理 数据用EXCEL整理分析,利用SPSS 26.0进行相关性分析、主成分分析和聚类分析,Origin 2019b进行绘图,TBtools进行热图绘制。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫对不同倍性多花黑麦草根长和芽长的影响

干旱胁迫下不同倍性多花黑麦草的根长和芽长见图1。从根长来看,二倍体和四倍体在6%PEG处理时与对照(CK)差异显著,并出现显著下降;随着PEG处理浓度(9%、12%和15%)的提高,根长都出现显著下降($P<0.05$),且四倍体的根长都明显高于二倍体,表明四倍体抗旱能力优于二倍体(图1a)。然而,3%PEG处理时四倍体根长较对照表现出轻微的上升趋势,但差异不显著,表明低浓度的PEG处理可以促进多花黑麦草根的生长(图1a)。

从芽长看,二倍体和四倍体在6%PEG处理时比对照出现显著下降($P<0.05$),随着处理浓度的提高芽长出现显著下降,且平均芽长都低于四倍体,表明二倍体比四倍体对干旱更敏感(图1b)。

2.2 干旱胁迫下多花黑麦草各指标相对值和平均抗旱系数

在3%和6%PEG处理下,23份多花黑麦草材料的相对胚根长、相对胚芽长、相对发芽率、相对发芽势、相对发芽指数和相对活力指数6项指标都保持较高的水平。随着PEG浓度的提高,对多花黑麦草生长的抑制变得更加明显,在9%、12%和15%PEG处理下,6项指标之间都存在极显著差异($P<0.01$)(图2a~图2f)。

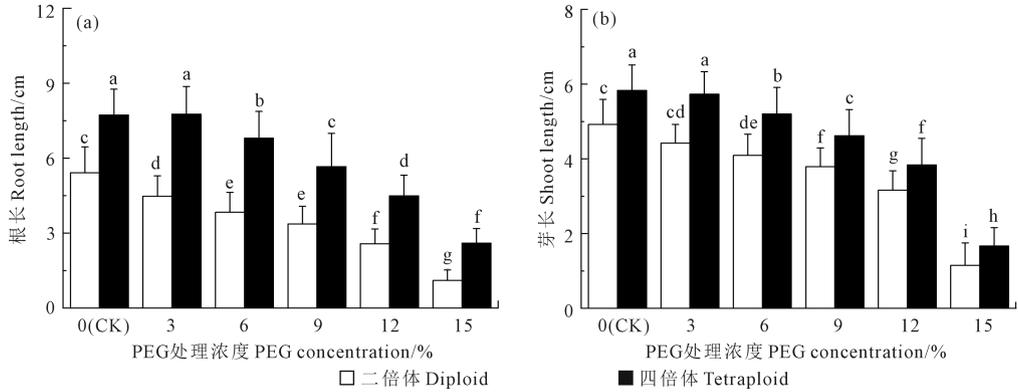
从相对胚根长看,在PEG胁迫下,四倍体多花黑麦草的相对胚根长普遍高于二倍体材料,其中在15%PEG处理下,PI 343155的相对胚根长最高,为

0.509,其次是川饲 1 号,相对胚根长为 0.423(图 2a)。在干旱胁迫下,植物会通过根的生长来吸收更多的水分和养分,而四倍体材料在不同浓度处理下都表现出较高的胚根长,表明四倍体材料更有利于应对干旱胁迫。

相对胚芽长也表现出相应的趋势,在 15% PEG

处理下,四倍体材料 PI 343155、特高和 PI 619469 表现出较高的胚芽长,表明干旱胁迫对其影响较低(图 2b)。

四倍体材料 PI 343155、PI 619469 和川农 1 号在 15% PEG 处理下的相对发芽势、相对发芽指数和相对活力指数最大,表明其种子活力较高(图 2d~图 2f)。



注:不同小写字母表示处理浓度和倍性间差异显著($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters indicate that there are significant differences between treatment concentration and ploidy ($P < 0.05$).

图 1 干旱胁迫下不同倍性多花黑麦草的根长 (A) 和芽长 (B)

Fig.1 Root length (A) and shoot length (B) of different ploidy of *Lolium multiflorum* under drought stress

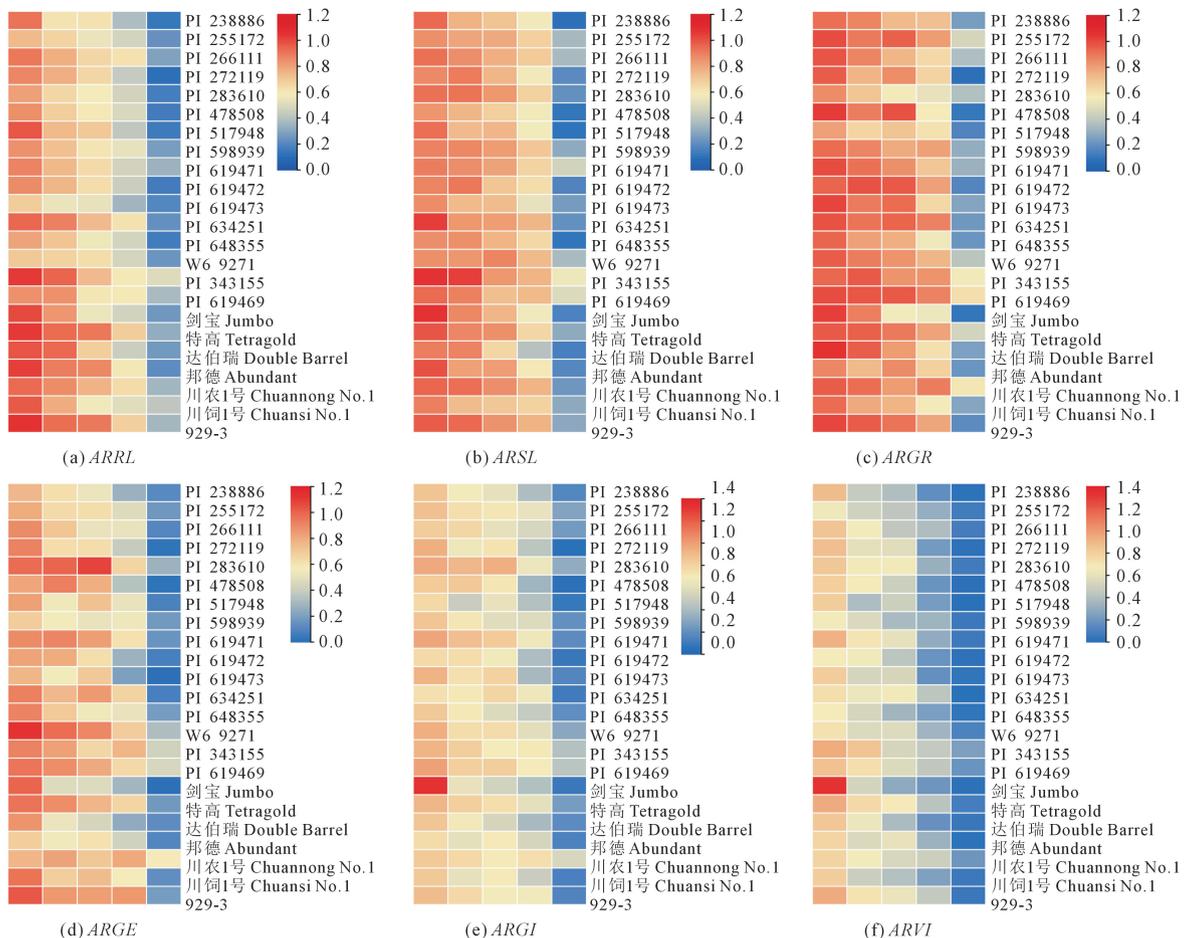


图 2 23 份多花黑麦草萌发期生长指标相对值

Fig.2 Relative values of growth indexes of 23 populations of *Lolium multiflorum* at germination stage

从各指标平均相对值来看,在干旱胁迫下,四倍体多花黑麦草的各指标平均值均高于二倍体多花黑麦草(表2)。四倍体中,929-3的平均相对胚根长和平均相对发芽势的值最高,为0.785和0.756;PI 343155的平均相对胚芽长和平均相对活力指数最高,为0.858和0.608;PI 619469的平均相对发芽率和平均相对发芽指数最高,为0.888和0.756。平均相对胚根长和平均相对发芽率最低的是品种剑宝,为0.624和0.623;达伯瑞的平均相对胚芽长、平均相对发芽势和平均相对发芽指数最低,分别为0.600、0.443和0.534;川饲1号的平均相对活力指数最低为0.403(表2)。以上结果表明:在四倍体材料中,929-3、PI 343155和PI 619469的抗旱性相对较高,而剑宝和达伯瑞的抗旱性相对较低。

二倍体材料中,PI 634251的平均相对胚根长最高,为0.683;PI 619471的平均相对胚芽长和平均相对活力指数最高,为0.744和0.522;PI 255172的平均相对发芽率最高,为0.826;W₆ 9271的平均相对发芽势最高,为0.809;PI 283610的平均相对发芽指数最高,为0.760。PI 619473的平均相对胚根长和平均相对发芽势最低,为0.466和0.447;PI 517948的平均相对发芽率、平均相对发芽指数最低,为0.584和0.484;平均相对胚芽长和平均相对活力指数最低的材料分别为PI 478508和PI 648355,为0.596和0.365。以上结果表明:在二倍体材料中,PI 255172、PI 283610、PI 619471、PI 634251和W₆ 9271的抗旱性相对较高,而PI 478508、PI 517948、PI 619473和PI 648355的抗旱性相对较弱。

2.3 干旱胁迫下多花黑麦草萌发期各项指标的相关性分析

对用于抗旱性评价的6项幼苗生长指标进行相关性分析,结果表明:在四倍体多花黑麦草中,除了平均相对胚根长与平均相对胚芽长,平均相对发芽率、平均相对发芽势和平均相对发芽指数,平均相对胚芽长与平均相对发芽率未相关外,其余指标之间都呈现显著或极显著相关性,其中,平均相对活力指数与平均相对胚芽长的相关性最高($R=0.912$, $P<0.01$)。6个萌发期指标与D值呈极显著正相关,相关程度依次为平均相对活力指数、平均相对胚芽长、平均相对发芽势、平均相对发芽指数、平均相对发芽率和平均相对胚根长(表3)。

二倍体多花黑麦草的平均相对胚芽长与平均相对发芽势和平均相对发芽指数分别达到显著($R=0.599$, $P<0.05$)和极显著水平($R=0.673$, $P<0.01$),平均相对发芽势与平均相对活力指数和平均

相对发芽指数达到显著和极显著水平($R=0.653$, $P<0.05$; $R=0.716$, $P<0.01$),平均相对发芽指数与平均相对活力指数达到极显著水平($R=0.687$, $P<0.01$)。除平均相对发芽率未与D值相关外,其余5个指标均与D值显著或极显著相关,表明这些指标可以作为多花黑麦草萌发期抗旱性初步筛选的指标(表3)。

2.4 干旱胁迫下多花黑麦草萌发期抗旱性的主成分分析

主成分分析可将多个指标转化为几个独立的指标,从而反映原来多指标的信息。将6个指标抗旱系数进行主成分分析后,得到两个主成分(PC1和PC2,见表4)。第一主成分的特征根为3.944,贡献率为65.73%,芽长、发芽势、发芽指数和活力指数有较高的载荷,反映了多花黑麦草的萌发情况,所以第一主成分可归纳为“萌发因子”;第二主成分特征根为0.888,贡献率为14.80%,根长有较高的载荷(0.743),反映了黑麦草的根部生长状况,可概括为“根部生长因子”。

表2 23份多花黑麦草的平均抗旱系数
Table 2 Average drought resistance coefficient of 23 populations of *Lolium multiflorum*

材料名称 Material	ARRL	ARSL	ARGR	ARGE	ARGI	ARVI
二倍体 Diploid						
PI 238886	0.535	0.623	0.697	0.461	0.551	0.388
PI 255172	0.533	0.699	0.826	0.543	0.656	0.394
PI 266111	0.650	0.728	0.720	0.549	0.610	0.487
PI 272119	0.570	0.663	0.658	0.521	0.568	0.455
PI 283610	0.538	0.719	0.600	0.800	0.760	0.511
PI 478508	0.557	0.596	0.717	0.581	0.566	0.435
PI 517948	0.600	0.626	0.584	0.541	0.484	0.388
PI 598939	0.599	0.725	0.733	0.497	0.592	0.399
PI 619471	0.616	0.744	0.754	0.684	0.709	0.522
PI 619472	0.574	0.666	0.771	0.520	0.541	0.393
PI 619473	0.466	0.628	0.750	0.447	0.608	0.418
PI 634251	0.683	0.738	0.789	0.656	0.601	0.499
PI 648355	0.540	0.653	0.655	0.573	0.562	0.365
W ₆ 9271	0.547	0.742	0.763	0.809	0.676	0.458
最大值 Maximum	0.683	0.744	0.826	0.809	0.760	0.522
最小值 Minimum	0.466	0.596	0.584	0.447	0.484	0.365
平均值 Average	0.572	0.682	0.716	0.584	0.606	0.437
标准差 SD	0.055	0.052	0.070	0.113	0.073	0.052
四倍体 Tetraploid						
PI 343155	0.766	0.858	0.826	0.721	0.717	0.608
PI 619469	0.654	0.766	0.888	0.747	0.756	0.560
剑宝 Jumbo	0.624	0.691	0.623	0.447	0.601	0.476
特高 Tetragold	0.776	0.741	0.812	0.691	0.675	0.581
达伯瑞 Double Barrel	0.663	0.600	0.741	0.443	0.534	0.416
邦德 Abundant	0.721	0.687	0.667	0.474	0.554	0.460
川农1号 Chuannong No.1	0.711	0.754	0.837	0.738	0.728	0.536
川饲1号 Chuansi No.1	0.650	0.666	0.661	0.619	0.560	0.403
929-3	0.785	0.771	0.773	0.756	0.635	0.559
最大值 Maximum	0.785	0.858	0.888	0.756	0.756	0.608
最小值 Minimum	0.624	0.600	0.623	0.443	0.534	0.403
平均值 Average	0.706	0.726	0.759	0.626	0.640	0.511
标准差 SD	0.061	0.075	0.091	0.135	0.083	0.074

因子载荷值除以该成分的特征根的平方根得到特征向量,将 6 个指标的平均抗旱系数进行数据标准化后,以公式(2)可得到两个主成分的综合指标值(F_1 和 F_2)。

$$F_1 = 0.647ARRL + 0.918ARSL + 0.661ARGR + 0.815ARGE + 0.852ARGI + 0.924ARVI$$

$$F_2 = 0.743ARRL + 0.034ARSL - 0.032ARGR - 0.319$$

$$ARGE - 0.451ARGI + 0.166ARVI$$

根据公式(3)和(4)得到的权重系数与隶属函数值 μ ,再按照公式(5)得到 D 值,即抗旱能力综合评价值(表 5)。结果显示 D 值的变化范围为 0.117~0.946,由 D 值排序可知,四倍体材料 PI 343155 抗旱性最强,二倍体材料 PI 238886 抗旱性最弱(表 5)。

表 3 二倍体和四倍体材料的抗旱指标相关性分析

Table 3 Correlation analysis of drought resistance indexes between diploid and tetraploid ryegrass

项目 Item	ARRL	ARSL	ARGR	ARGE	ARGI	ARVI	D 值 D value
ARRL	1.000	0.513	0.092	0.176	-0.09	0.452	0.576 *
ARSL	0.600	1.000	0.348	0.599 *	0.673 **	0.628 *	0.897 **
ARGR	0.418	0.626	1.000	-0.072	0.192	0.056	0.334
ARGE	0.541	0.784 *	0.791 *	1.000	0.716 **	0.653 *	0.758 **
ARGI	0.299	0.820 **	0.852 **	0.813 **	1.000	0.687 **	0.722 **
ARVI	0.675 *	0.912 **	0.751 *	0.758 *	0.853 **	1.000	0.847 **
D 值 D value	0.710 **	0.916 **	0.835 **	0.902 **	0.872 **	0.953 **	1.000

注:以 1.000 为界,右上数值为二倍体相关性,左下数值为四倍体相关性。* 表示在 $P < 0.05$ 时差异显著; ** 表示在 $P < 0.01$ 时差异显著。

Note: Taking 1.000 as the boundary, the upper right value is diploid correlation, and the lower left value is tetraploid correlation. * means significant at $P < 0.05$, ** means significant at $P < 0.01$, respectively.

表 4 23 份多花黑麦草萌发期抗旱性主成分分析

Table 4 Principal component analysis of drought resistance of 23 populations of *Lolium multiflorum* at germination stage

指标 Index	特征根 Eigen value	贡献率/% Contribution rate	累计贡献率/% Accumulated contribution rate	因子载荷 Factor loading					
				ARRL	ARSL	ARGR	ARGE	ARGI	ARVI
第一主成分 PC1	3.944	65.73	65.730	0.647	0.918	0.661	0.815	0.852	0.924
第二主成分 PC2	0.888	14.80	80.530	0.743	0.034	-0.032	-0.319	-0.451	0.166

表 5 23 份多花黑麦草的 D 值

Table 5 D value of 23 populations of *Lolium multiflorum*

材料名称 Material	倍性 Ploidy	综合指标值 Comprehensive index value		隶属函数值 Membership function value		D 值 D value	排序 Rank
		F_1	F_2	μ_1	μ_2		
929-3	4x	1.712	0.160	0.816	0.803	0.814	2
特高 Tetragold	4x	1.709	0.157	0.809	0.796	0.807	3
PI 619469	4x	1.754	-0.003	0.897	0.328	0.792	4
川农 1 号 Chuannong No.1	4x	1.723	0.055	0.838	0.497	0.775	5
PI 619471	2x	1.623	0.008	0.645	0.358	0.592	6
PI 634251	2x	1.585	0.117	0.572	0.677	0.591	7
W ₆ 9271	2x	1.610	-0.085	0.619	0.087	0.521	8
PI 283610	2x	1.599	-0.115	0.598	0.000	0.488	9
PI 266111	2x	1.501	0.122	0.410	0.693	0.462	10
邦德 Abundant	4x	1.420	0.227	0.253	1.000	0.391	11
川饲 1 号 Chuansi No.1	4x	1.421	0.108	0.255	0.651	0.328	12
PI 255172	2x	1.459	-0.010	0.328	0.305	0.324	13
PI 598939	2x	1.418	0.092	0.248	0.605	0.314	14
剑宝 Jumbo	4x	1.393	0.140	0.200	0.747	0.300	15
PI 272119	2x	1.380	0.083	0.175	0.579	0.250	16
PI 619472	2x	1.380	0.085	0.175	0.584	0.250	17
达伯瑞 Double Barrel	4x	1.344	0.187	0.106	0.885	0.249	18
PI 478508	2x	1.379	0.045	0.174	0.468	0.228	19
PI 648355	2x	1.342	0.029	0.102	0.420	0.161	20
PI 517948	2x	1.289	0.129	0.000	0.714	0.131	21
PI 619473	2x	1.330	-0.004	0.080	0.323	0.124	22
PI 238886	2x	1.300	0.069	0.022	0.539	0.117	23

2.5 聚类分析

采用欧式距离法对 23 份多花黑麦草的抗旱能力综合评价价值 (D 值) 进行系统聚类分析。结果表明: 在欧式距离 3.8 处, 23 份材料可以分为 4 大类。第 I 类为 PI 343155、PI 619469、929-3、川农 1 号、特高 5 份四倍体抗旱材料; 第 II 类全部为二倍体材料, 共 5 份, 即 PI 266111、PI 283610、PI 619471、PI 634251 和 W₆ 9271; 第 III 类为 PI 272119 等 9 份中等抗旱材料; 第 IV 类全部为二倍体材料, 包括 PI 238886 等 4 份二倍体干旱敏感材料 (图 3)。

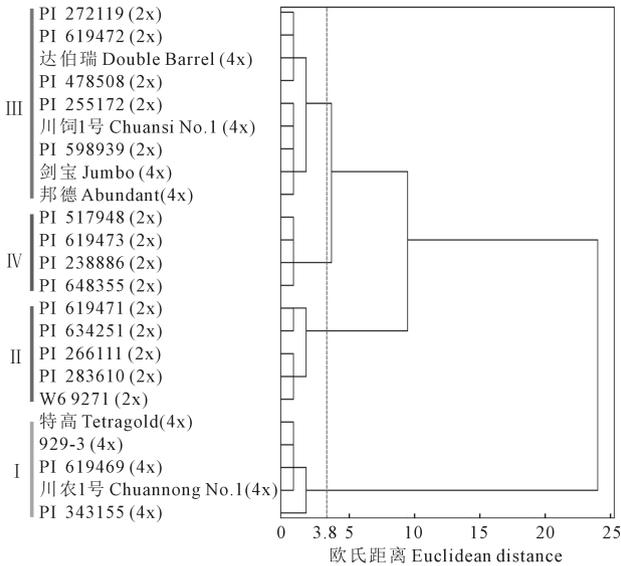


图 3 23 份多花黑麦草 D 值的聚类分析

Fig.3 D value cluster analysis of 23 populations of *Lolium multiflorum*

3 讨论与结论

3.1 多花黑麦草萌发期抗旱性鉴定

植物的抗旱性是由多个因子控制的数量性状, 不同材料对某一指标的抗旱性反应不一定相同, 因此用单一指标评价抗旱性不能全面反映其抗旱能力^[22-24]。萌发期抗旱性评价指标包括根长、芽长、发芽率和胚根鞘长等^[14, 25]。张海平等^[26]以 6 项萌发指标对 568 份大豆进行了萌发期耐旱种质筛选, 筛选出 4 份耐旱种质和 18 份较耐旱种质。郝俊峰等^[18]以本研究的 6 项指标对 11 份苜蓿材料进行萌发期抗旱性评价, 筛选出农菁 8 号等萌发期抗旱性材料。

根长和芽长作为干旱胁迫响应的基本参数, 是衡量植物抗旱能力的两个重要指标。本研究中, 在 3% PEG 处理下, 部分四倍体多花黑麦草的胚根长如 PI 343155、剑宝、特高、邦德和 929-3 较对照处理表现出上升的趋势, 而二倍体材料的胚根长均低于

对照; 四倍体材料 PI 343155、剑宝和邦德的胚芽长和对照相比表现出上升的趋势, 而二倍体材料同样均低于对照。但随着 PEG 浓度的不断升高, 各项指标都开始表现出下降趋势, 说明高浓度的 PEG 抑制了多花黑麦草的生长。在 12% PEG 处理下, 所有材料的根均可生长, 而在 15% PEG 处理下, 部分二倍体材料如 PI 238886 的根表现出停止生长的趋势, 表明 12%~15% PEG 可作为多花黑麦草萌发期抗旱材料筛选的合适浓度。相关性分析也表明, 四倍体全部指标、二倍体除相对发芽率指标外都与 D 值显著或极显著相关, 表明这些指标可以作为综合反映多花黑麦草萌发期抗旱性的首选指标。

PAN 等^[9]、ZHAO 等^[11]和谢宏伟等^[10]的研究表明邦德、剑宝和特高都是抗旱品种, 在本研究的 12% PEG 和 15% PEG 高浓度处理下, 以上 3 个品种也表现出较高的相对胚根长, 表明它们为抗旱性较强的品种。同时, 本研究中, 在 12% PEG 处理下, 川饲 1 号和剑宝的相对胚根长相近, 而在 15% PEG 处理下, 川饲 1 号的相对胚根长高于邦德、剑宝和特高, 说明川饲 1 号也是相对抗旱的材料。

3.2 不同倍性多花黑麦草的抗旱性比较

多倍体作为一种重要的遗传和育种资源, 具有更强的抗逆性。目前已在柳枝稷^[27]、大麦^[28]、柑橘^[29]等植物中研究其多倍体的耐旱性, 但关于不同倍性多花黑麦草抗旱性的研究相对较少。本研究中, 在不同浓度处理下, 四倍体多花黑麦草的根长和芽长均显著高于二倍体, 表明四倍体多花黑麦草相比二倍体多花黑麦草在干旱胁迫下更能适应干旱环境。同时, 本研究中部分四倍体多花黑麦草的 D 值低于二倍体, 表明其抗旱能力低于部分二倍体材料。

在干旱胁迫下, 四倍体材料所有指标的平均相对值均高于二倍体材料, 其中四倍体材料的平均相对胚根长和平均相对活力指数均显著高于二倍体材料 ($P=0.00<0.05$; $P=0.01<0.05$), 其余 4 项指标差异不显著。说明在干旱胁迫下, 二倍体材料在根长和活力指数这两个指标上相对于四倍体材料更加敏感。

23 份不同倍性多花黑麦草通过测定 6 项萌发指标并结合隶属函数分析、主成分分析和聚类分析进行萌发期抗旱性初步鉴定, 筛选出 PI 343155、PI 619469、929-3、川农 1 号和特高等 5 份四倍体和 PI 266111、PI 283610、PI 619471、PI 634251 和 W₆ 9271 等 5 份二倍体抗旱性较强的材料。这些材料大部分为育成品种 (系) 和野生材料, 经过长期的自然选择

和人工选择,能够适应干旱环境。但萌发期的抗旱性并不能代表全生育期的抗旱性,这些萌发期抗旱性强的多花黑麦草需通过苗期和成株期鉴定,以进一步确定其苗期和成株期抗旱能力。

致谢:感谢美国国家植物种质资源库(American National Plant Germplasm System, Pullman, Washington, USA)及四川农业大学草业科技学院马啸教授提供部分研究材料。

参考文献:

- [1] BALDINGER L, BAUMUNG R, ZOLLITSCH W, et al. Italian ryegrass silage in winter feeding of organic dairy cows; forage intake, milk yield and composition [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2011, 91(3): 435-442.
- [2] RIOS E F, KENWORTHY K E, MUNOZ P R, et al. Association of phenotypic traits with ploidy and genome size in annual ryegrass [J]. *Crop Science*, 2015, 55(5): 2078-2090.
- [3] RIOS E F, KENWORTHY K E, GEZAN S A, et al. Genetic parameters for phenotypic traits in annual ryegrass [J]. *Crop Science*, 2019, 59(5): 2128-2140.
- [4] 杨帆,苗灵凤,胥晓,等.植物对干旱胁迫的响应研究进展[J]. *应用与环境生物学报*, 2007, 13(4): 586-591.
- YANG F, MIAO L F, XU X, et al. Progress in research of plant response to drought stress [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2007, 13(4): 586-591.
- [5] 喻方圆,徐锡增.植物逆境生理研究进展[J]. *世界林业研究*, 2003, 16(5): 6-11.
- YU F Y, XU X Z. A review on plant stress physiology [J]. *World Forestry Research*, 2003, 16(5): 6-11.
- [6] 熊阳阳,韩博.3种禾本科牧草萌发期和苗期的抗旱性研究[J]. *安徽农业科学*, 2018, 46(7): 88-91.
- XIONG Y Y, HAN B. Study on the drought resistance of three kinds of gramineae forage in the germination and seedling stages [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2018, 46(7): 88-91.
- [7] 赵海明,游永亮,李源,等.多年生黑麦草种质苗期抗旱性综合评价[J]. *草原与草坪*, 2016, 36(6): 8-15.
- ZHAO H M, YOU Y L, LI Y, ET al. Comprehensive evaluation on drought resistant of *Lolium perenne* in seedling stage [J]. *Grassland and Turf*, 2016, 36(6): 8-15.
- [8] 宋娅丽,王莎,王克勤,等.3种冷季型草坪草苗期对干旱胁迫的生理响应[J]. *草原与草坪*, 2018, 38(3): 9-16.
- SONG Y L, WANG S, WANG K Q, et al. Physiological and ecological responses of three cool season turfgrasses to drought stress at seedling stage [J]. *Grassland and Turf*, 2018, 38(3): 9-16.
- [9] PAN L, ZHANG X Q, WANG J P, et al. Transcriptional profiles of drought-related genes in modulating metabolic processes and antioxidant defenses in *Lolium multiflorum* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 519.
- [10] 谢宏伟,李阳,徐庆国.不同黑麦草品种种子萌发期抗旱性研究[J]. *草原与草坪*, 2012, 32(1): 72-75.
- XIE H W, LI Y, XU Q G. Study on drought resistance of different ryegrass varieties in seed germination stage [J]. *Grassland and Turf*, 2012, 32(1): 72-75.
- [11] ZHAO J M, PAN L, ZHOU M, et al. Comparative physiological and transcriptomic analyses reveal mechanisms of improved osmotic stress tolerance in annual ryegrass by exogenous chitosan [J]. *Genes*, 2019, 10(11): 853.
- [12] 赵春程,李晓宁,张寅坤,等.4个多年生黑麦草品种对干旱胁迫的生理响应[J]. *草业科学*, 2020, 37(4): 669-677.
- ZHAO C C, LI X N, ZHANG Y K, et al. Physiological correspondence of four varieties of perennial ryegrass to drought stress [J]. *Pratacultural Science*, 2020, 37(4): 669-677.
- [13] 石永红,万里强,刘建宁,等.多年生黑麦草抗旱性主成分及隶属函数分析[J]. *草地学报*, 2010, 18(5): 669-672.
- SHI Y H, WAN L Q, LIU J N, et al. Analysis of the principal components and the subordinate function of *Lolium perenne* drought resistance [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2010, 18(5): 669-672.
- [14] 王赞,李源,吴欣明,等.PEG 渗透胁迫下鸭茅种子萌发特性及抗旱性鉴定[J]. *中国草地学报*, 2008, 30(1): 50-55.
- WANG Z, LI Y, WU X M, et al. Study on germination characteristics and drought resistance evaluation of *dactylic glomerata* L. under osmotic stress [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2008, 30(1): 50-55.
- [15] 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抗旱性评价[J]. *中国草地学报*, 2010, 32(1): 32-39.
- LI P Y, SUN Z J, ABULAITI. Evaluation of drought resistance 29 accessions of *Elytrigia repens* at seed germination stage under PEG-6000 stress [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2010, 32(1): 32-39.
- [16] 鱼小军,肖红,徐长林,等.扁蓿豆和苜蓿种子萌发期抗旱性和耐盐性比较[J]. *植物遗传资源学报*, 2015, 16(2): 405-410.
- YU X J, XIAO H, XU C L, et al. Comparative study on drought resistance and salt tolerance of *Medicago ruthenica* and *Medicago varia* at seed germination period [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2015, 16(2): 405-410.
- [17] FANG Z G, HU Z Y, ZHAO H H, et al. Screening for cadmium tolerance of 21 cultivars from Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam) during germination [J]. *Grassland Science*, 2017, 63(1): 36-45.
- [18] 郝俊峰,张玉霞,贾玉山,等.PEG-6000 胁迫下苜蓿萌发期抗旱性鉴定与评价[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2020, 48(11): 23-32.
- HAO J F, ZHANG Y X, JIA Y S, et al. Identification and evaluation of drought resistance of alfalfa at germination stage under PEG-6000 stress [J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2020, 48(11): 23-32.
- [19] 李佳欢,刘希强,吕进英,等.基于植株各器官生理响应对 12 种苜蓿抗旱性的综合评价[J]. *草地学报*, 2020, 28(5): 1319-1328.
- LI J H, LIU X Q, LV J Y, et al. Drought resistance evaluation of 12 alfalfa varieties based on physiological response of four plant organs [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2020, 28(5): 1319-1328.
- [20] 任毅,颜安,张芳,等.国内外 301 份小麦品种(系)种子萌发期抗旱性鉴定及评价[J]. *干旱地区农业研究*, 2019, 37(3): 1-14.
- REN Y, YAN A, ZHANG F, et al. Identification and evaluation of drought tolerance of 301 wheat varieties (lines) at germination stage [J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2019, 37(3): 1-14.