

$^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照诱变处理下白三叶草种子萌发期抗旱性研究

杨丽^{1,2} 王瑜¹ 袁庆华^{1*}

(1. 中国农业科学院 北京畜牧兽医研究所, 北京 100193;

2. 兰州大学 草地农业科技学院, 兰州 730000)

摘要 为了解白三叶草种子萌发期的抗旱性能,以聚乙二醇(PEG-4000)为渗透介质模拟干旱水分胁迫条件,对6份白三叶品种 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照诱变种子萌发期的发芽率、发芽势、胚根长、叶绿素和胚根水势等指标进行测定,运用标准差系数赋予权重法对胡衣阿品种的各PEG质量浓度胁迫的各测定指标值进行综合评价,筛选出最佳PEG胁迫质量浓度,并以筛选出的PEG质量浓度为依据,利用主成分分析法对6份白三叶品种的各测定指标予以鉴定筛选,然后再以筛选后的指标和最佳PEG胁迫质量浓度为根据,对各品种的抗旱性进行综合评价。结果表明:PEG 120 g/L为白三叶诱变种子萌发期的最佳干旱胁迫质量浓度,发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数为主要抗旱性鉴定指标,胡衣阿、瑞文德、铺地、库拉、海法和克尔利卡诺瓦品种的最佳辐照剂量分别为800、1 000、60、30、60和400 Gy。

关键词 白三叶; $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照; PEG 渗透胁迫; 抗旱性

中图分类号 S 541⁺.2

文章编号 1007-4333(2015)02-0156-11

文献标志码 A

Drought resistance of the white clover irradiated by $^{60}\text{Co}-\gamma$ -ray in the seed germination stage

YANG Li^{1,2}, WANG Yu¹, YUAN Qing-hua^{1*}

(1. Institute of Animal Sciences of Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100193, China;

2. School of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Abstract Six different varieties of white clover have been irradiated by ^{60}Co , then simulating drought water stress with PEG-4000 solution, their GP, GV, radicle length, chlorophyll content, root water potential were measured during their seed germination period. The above indicators of Huia variety of PEG stress had been taken as a comprehensive evaluation which used the standard deviation coefficient allocation weighted method. The measurement indicators of the 6 white clover varieties were identified screening by using the principal component analysis based on the best PEG concentration which had been filtered out. Then, the drought resistance of each variety had been evaluated by a comprehensive analysis, which was based on the screened indicators and the best PEG stress concentration. Experimental results showed that PEG 120 g/L was the best drought stress concentration of white clover mutagenesis seed germination. Principal component analysis showed that the GP, GV, GI and VI of white clover could be used as major drought resistance assessment indicators. The best irradiation doses of Huia, Rivendel, Prop, Cauca sian, Haifa, Cillikanova were 800, 1 000, 60, 30, 60 and 400 Gy respectively.

Key words white clover; ^{60}Co - irradiation; PEG osmotic stress; drought resistance

收稿日期: 2014-06-13

基金项目: 国家“十二五”科技支撑项目(2011BAD17B01); 国家牧草产业体系(岗位专家)项目资助

第一作者: 杨丽, 硕士, 主要从事牧草遗传资源与育种研究, E-mail: yangliy@126.com

通讯作者: 袁庆华, 研究员, 主要从事牧草种质资源及草地保护研究, E-mail: yuanqinghua@hotmail.com

白三叶草(*Trifolium repens*),是豆科三叶草属多年生草本植物,原产于欧洲和地中海盆地,广泛分布于温带及亚热带高海拔地区,国内主要分布在华南、西南及沿海等地^[1-2],喜温暖湿润气候,是一种优质牧草及草坪草资源,其植株低矮,根、茎蔓延于地表层,能有效减少地表径流,起到防风固沙的作用^[3],但在干旱条件下生长较慢,高温季节有部分枯死现象,极大的限制了白三叶草在大部分地区的推广使用,因此,选育抗旱性较强的白三叶草新品种具有重要意义。

种子萌发直接关系到出苗情况,是植物生活史中的关键阶段^[4]。聚乙二醇模拟干旱胁迫已成为鉴定不同材料的抗旱性的重要手段^[5-6]。Bousslama等^[7]也提出根据种子在高渗溶液中的发芽率和发芽势来评价萌发期的抗旱性。本试验利用聚乙二醇(PEG-4000)高渗溶液模拟干旱胁迫的方法,通过对6个白三叶草品种的⁶⁰Co-γ 辐照诱变种子的多个指标进行系统分析,初步建立白三叶草诱变种子的抗旱评价体系,并对每个品种的辐照诱变剂量进行抗旱性综合评价,筛选最佳辐照诱变剂量,旨在为白三叶草的抗旱育种提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 供试材料及来源

供试白三叶草品种为胡衣阿(Huia)、瑞文德(Rivendel)、铺地(Prop)、海法(Haifa)、库拉(Caucasian)和克尔利卡诺瓦(Cililkanova)。其中胡衣阿和瑞文德由北京克劳沃草业技术开发中心提供,铺地由北京百绿集团提供,库拉、海法和克尔利卡诺瓦由中国农业科学院北京畜牧兽医研究所提供。

1.2 试验设计

1.2.1 辐照处理

将6份白三叶草的干种子装入牛皮纸袋,2012年在北京大学辐照中心⁶⁰Co-γ 射线辐照处理,试验设10个辐照剂量处理,即0、30、60、90、120、200、400、600、800和1000 Gy,剂量率为10 Gy/min。

1.2.2 干旱胁迫试验

以PEG-4000溶液模拟干旱胁迫,共设4个胁迫质量浓度,即40、80、120和160 g/L,与之相对应的溶液水势约为-0.27、-0.53、-0.80和-1.33 MPa^[8],对照(CK)以蒸馏水代替PEG-4000。选大小均匀、籽粒饱满的种子置于培养皿内浸透了PEG-4000溶液的滤纸上发芽,每处理3次重复,每

个重复30粒种子。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 发芽率、发芽势、发芽指数及活力指数

1)测定方法。干旱胁迫试验在人工智能气候培养箱中进行,光照强度为5500 lx,湿度50%,18℃(16 h)~25℃(8 h)变温。每天向滤纸中加PEG-4000溶液数滴,浸透滤纸并稍有剩余,以尽量减少水势变动^[9-10]。从种子置床之日起观察,以胚芽的长度为种子长度的1/2时为发芽标准,将3个重复中有1粒种子发芽之日作为该处理发芽的开始期,记录每天的发芽粒数,3 d观察发芽势,7 d观察发芽率。在第7天,测量胚根和胚芽的长度、子叶叶绿素含量、胚根及子叶水势。

2)计算公式。

发芽率(GP)/%=种子发芽粒数/供试种子总数×100

发芽势(GV)/%=种子发芽达到最高峰的发芽粒数/供试种子总数×100。

发芽指数(GI)=∑(Gt/Dt),Gt为t日的发芽数,Dt为相应的发芽天数;

活力指数(VI)=种苗全长×发芽指数

指标相对值(即抗旱系数^[11-12])=干旱胁迫下的指标值/正常水分下的指标值

单项指标耐旱系数的计算^[13]:

$$\omega = \frac{\text{不同浓度处理下的平均测定值}}{\text{对照测定值}}$$

1.3.2 胚根及胚芽长度

培养第7天,各重复中随机挑选10粒正常发芽的种子,用镊子轻轻将萌芽种子取出,滤纸吸干后,用直尺测定胚根长度及胚芽的长度。

1.3.3 叶绿素含量

每重复随机挑选3片子叶,使用MINOLAT SPAD-502型叶绿素测定仪测定,然后取平均值作为每个重复的子叶叶绿素值,每处理3次重复。

1.3.4 水势

每重复随机挑选3粒正常发芽的种子,用镊子轻轻将萌芽种子取出,然后用刀片切取其子叶及胚根,滤纸吸干后使用PSYPRO露点水势仪测定,每处理3次重复。

1.4 数据处理及评价方法

运用Microsoft Excel 2003和SAS 8.0进行方差分析;抗旱指标的筛选采用主成分分析法;综合评价方法采用标准差系数赋予权重法,计算方法如下:

1.4.1 数据标准化

在进行抗旱隶属值计算时,需利用下列公式进行标准化处理。

$$\mu(X_{ij}) = \sum \frac{X_{ij} - X_{j\min}}{X_{j\max} - X_{j\min}} \quad (1)$$

$$\mu(X_{ij}) = \sum \frac{X_{j\max} - X_{ij}}{X_{j\max} - X_{j\min}} \quad j = 1, 2, \dots, n \quad (2)$$

式中: $\mu(X_{ij})$ 为第*i*个辐照第*j*个指标的隶属函数值; X_{ij} 为第*i*个辐照第*j*个指标在某一个PEG质量浓度下的抗旱系数; $X_{j\max}$ 、 $X_{j\min}$ 分别为第*j*个指标在某一个PEG质量浓度下的最大、最小的抗旱系数,然后再把*j*指标下的隶属函数值累加,该累加值即为隶属函数值 $\mu(X_{ij})$;指标与抗旱性成正相关用隶属函数式(1)计算隶属函数值,指标与抗旱性成负相关用反隶属函数式(2)计算隶属函数值。

1.4.2 权重确定

采用标准差系数法(S),用式(3)计算标准差系数 V_j ,式(4)归一化后得到各指标的权重系数 W_j 。

$$V_j = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X_{ij} - \bar{X}_j)^2}}{\bar{X}_j} \quad (3)$$

式中: \bar{X}_j 为第*j*个指标的耐旱系数平均值

$$W_j = \frac{V_j}{\sum_{j=1}^m V_j} \quad (4)$$

1.4.3 综合评价值

用式(5)计算各辐照剂量的综合评价值

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

式中: D 值为各辐照剂量的综合评价值。

2 结果与分析

2.1 胡衣阿品种的方差分析

以PEG 0 g/L为对照,对胡衣阿白三叶草的发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数、胚根长、叶绿素、胚根水势及子叶水势这8个指标进行方差分析,从表1中显然可以看出,不同PEG质量浓度处理间,除子叶水势外,其他7个指标都存在极显著差异($P < 0.01$);不同辐照剂量处理间,胚根水势和子叶水势的差异显著($P < 0.05$),其他6个指标差异极显著($P < 0.01$);不同PEG质量浓度与不同辐照剂量的交互作用也不相同。

表1 不同PEG胁迫质量浓度处理胡衣阿品种8个指标的方差分析

Table 1 Variance analysis of 8 indexes of different PEG stresses

变异来源 Source of variation	自由度 DF	F值 F Value							
		发芽率 Germination percentage	发芽势 Germination rate	发芽指数 Germination index	活力指数 Vitality index	胚根长 Radicle length	叶绿素 Chlorophyll content	胚根水势 Root water potential	子叶水势 Leaf water potential
PEG质量浓度间	4	18.55**	52.19**	201.07**	131.08**	5.75**	7.36**	4.07**	2.07
辐照剂量间	9	4.64**	4.21**	9.60**	10.64**	3.03**	4.91**	2.50*	2.28*
PEG质量浓度× 辐照剂量	36	2.07**	2.05**	1.83**	1.90**	0.98	1.44	0.42	0.36
误差	100								
总和	149								

注:**表示在0.01水平差异显著,*表示在0.05水平差异显著。

Note:** mean significant difference at 0.01 level,* mean significant difference at 0.05 level.

由表2可知,同一指标不同处理组合间的最小二乘均数不相同,并且同一处理组合不同指标之间也不相同。发芽率指标的最小二乘均数高于对照处理的组合有13、14、37、38、42、43、44、45、47、48和49,其中,49和47号组合最高,发芽率分别为107.41和106.17,25号处理发芽率最低,只有

49.38;发芽势指标中7、8、13、22、32、37、42、43和47号处理高于对照,其中42、7和43号发芽势最高,分别为106.73、105.82和105.34;发芽指数指标中的7和42号组合较好,发芽指数分别为108.52和106.52;38号处理组合的活力指数为101.75高于对照;5、14、27、38、39、40、43、44和45号处理组

合的胚根长最小二乘均数大于对照；而叶绿素指标中高于对照处理的有 9 个组合，分别为 2、3、7、9、12、17、19、27 和 45 号；胚根水势和子叶水势均随 PEG 胁迫质量浓度的增加呈下降趋势，但不同组合

处理的下降幅度不一致。综上所述，用单项指标难以真正反映出 PEG 胁迫质量浓度、辐照剂量及 PEG 胁迫质量浓度×辐照剂量处理对胡衣阿白三叶草的效应，需要运用多指标进行综合评价。

表 2 胡衣阿白三叶草不同处理组合的交互效应

Table 2 Interaction of different combination treatments on Huia

处理 组合号 No. of combination treatment	处理组合*		各指标的最小二乘均数 Least squares means							
	Combination treatment		发芽率 Germination percentage	发芽势 Germination rate	发芽指数 Germination index	活力指数 Vitality index	胚根长 Radicle length	叶绿素 Chlorophyll content	胚根水势 Root water potential	子叶水势 Leaf water potential
	辐照剂 量/Gy	PEG/ (g/L)								
1	0	0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
2	0	40	98.89	97.57	88.27	64.79	49.86	110.45	325.00	164.39
3	0	80	90.72	81.88	76.29	55.01	48.22	103.99	429.03	241.32
4	0	120	85.76	73.46	60.70	50.06	77.20	98.55	495.62	304.55
5	0	160	69.99	42.64	35.29	32.30	101.10	81.45	600.19	414.51
6	30	0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
7	30	40	98.81	105.82	108.52	71.22	49.50	110.11	107.04	100.91
8	30	80	98.81	103.30	93.53	74.02	66.81	80.21	129.40	127.27
9	30	120	97.62	91.16	83.01	72.58	78.37	156.34	167.19	201.97
10	30	160	76.31	56.58	49.83	44.31	86.06	81.35	157.84	271.96
11	60	0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
12	60	40	91.83	94.05	85.58	74.50	71.63	104.07	67.84	396.45
13	60	80	100.08	103.66	87.93	86.71	92.07	75.01	171.51	2 703.71
14	60	120	100.04	90.11	68.38	70.04	102.18	90.90	462.50	2232.22
15	60	160	95.40	84.98	52.48	46.14	80.91	67.86	477.04	2732.15
16	90	0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
17	90	40	97.70	98.85	95.37	68.55	59.74	103.35	212.93	648.91
18	90	80	95.40	91.79	80.28	67.45	78.31	83.66	344.06	1129.49
19	90	120	95.40	82.31	66.59	54.59	82.86	103.81	432.92	695.67
20	90	160	96.55	68.31	52.12	47.18	89.11	87.26	611.87	645.73
21	120	0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
22	120	40	100.00	102.01	76.89	53.93	49.26	64.30	282.98	141.70
23	120	80	97.53	91.15	69.72	61.06	65.04	60.54	287.91	362.70
24	120	120	93.83	87.47	64.58	50.91	79.37	75.55	295.12	367.18
25	120	160	49.38	12.74	21.24	16.13	67.44	51.23	327.00	429.37
26	200	0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
27	200	40	99.14	83.55	81.85	63.90	141.69	102.30	124.07	548.13
28	200	80	95.68	92.75	87.83	83.71	85.67	79.30	145.02	646.39
29	200	120	95.43	68.01	65.23	64.32	84.95	73.99	147.39	664.81
30	200	160	84.69	67.35	52.37	53.67	97.68	78.20	152.08	903.61
31	400	0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
32	400	40	98.81	101.25	93.21	77.63	69.37	69.28	130.59	228.54

表2(续)

处理 组合号 No. of combination treatment	处理组合*		各指标的最小二乘均数 Least squares means							
	Combination treatment		发芽率	发芽势	发芽指数	活力指数	胚根长	叶绿素	胚根水势	子叶水势
	辐照剂 量/Gy	PEG/ (g/L)	Germination percentage	Germination rate	Germination index	Vitality index	Radicle length	Chlorophyll content	Root water potential	Leaf water potential
33	400	80	96.47	92.44	83.07	70.14	74.12	76.86	137.18	274.76
34	400	120	98.90	67.66	61.77	57.86	84.59	60.43	138.56	310.92
35	400	160	62.92	28.34	26.24	19.72	63.67	39.07	145.78	376.81
36	600	0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
37	600	40	102.42	102.56	97.08	80.94	72.29	97.76	111.85	526.25
38	600	80	104.99	97.22	96.47	101.75	106.16	68.27	132.07	545.91
39	600	120	98.91	85.58	73.49	78.97	120.11	97.35	150.36	947.26
40	600	160	88.79	57.91	49.00	46.38	110.45	90.02	158.26	1081.44
41	800	0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
42	800	40	104.85	106.73	106.52	95.98	77.67	85.01	114.37	253.68
43	800	80	103.62	105.34	97.28	94.21	101.15	69.19	147.49	257.99
44	800	120	103.66	97.01	75.85	78.39	110.71	60.47	168.02	806.35
45	800	160	104.85	75.43	57.28	51.48	101.44	101.56	217.89	861.98
46	1 000	0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
47	1 000	40	106.17	101.50	98.83	77.23	65.21	65.94	105.82	114.07
48	1 000	80	102.47	93.38	84.08	64.15	69.60	64.81	321.04	212.84
49	1 000	120	107.41	92.74	73.65	63.43	80.21	66.79	154.47	262.33
50	1 000	160	97.53	81.52	58.03	45.17	78.10	65.79	348.52	342.19

注: * 处理组合表示辐照处理和 PEG 干旱胁迫的交互作用。

Note: * Combination treatment mean interaction of irradiation and PEG drought stress.

2.2 胡衣阿白三叶草萌发期抗旱性综合评价

采用标准差系数赋予权重法,计算不同 PEG 胁迫质量浓度的综合评价值(即 D 值)(表 3),根据 D 值结果可以看出,PEG 0 g/L 的 D 值最高为 6.35,当 PEG 质量浓度为 40~120 g/L 时,随着 PEG 质

量浓度增加 D 值增大,但均 < PEG 0 g/L 的 D 值,PEG 120 g/L 的 D 值仅次于 PEG 0 g/L 的 D 值为 6.00,PEG 160 g/L 的 D 值最低为 3.19。说明胡衣阿白三叶草辐照诱变种子的最佳 PEG 胁迫质量浓度为 120 g/L。

表 3 胡衣阿品种萌发期抗旱性综合评价

Table 3 Comprehensive evaluation of the drought resistance of Huia at the germination stage

$w(\text{PEG})/$ (g/L) Concentration of PEG	隶属函数总和 Subordinative function								D 值 Evaluation D	排序 Order
	发芽率 Germination percentage	发芽势 Germination rate	发芽指数 Germination index	活力指数 Vitality index	胚根长 Radicle length	叶绿素 Chlorophyll content	胚根水势 Root water potential	子叶水势 Leaf water potential		
0	7.93	9.30	9.72	9.97	8.43	8.48	0.08	0.00	6.35	1
40	8.04	8.90	8.57	5.41	1.19	6.69	3.06	2.70	5.53	4
80	7.46	8.34	7.21	6.04	3.63	2.19	6.17	5.83	5.78	3
120	7.35	5.22	4.13	3.95	6.29	5.05	7.68	7.37	6.00	2
160	1.68	0.00	0.00	0.00	5.23	2.06	9.86	9.53	3.91	5
权重 Weight	0.12	0.11	0.11	0.11	0.10	0.15	0.23	0.06		

2.3 白三叶草辐照诱变种子萌发期抗旱指标的主成分分析

通过对胡衣阿白三叶草萌发期抗旱性进行综合评价,结果表明最佳 PEG 胁迫质量浓度为 120 g/L。以白三叶草各品种在 PEG 120 g/L 胁迫时 8 个测定指标的相对值为依据,即作为主成分分析的原数据矩阵,进一步分析得出各指标的贡献率。由表 4 可知胡衣阿品种的第一、第二、第三和第四主成分的

贡献率分别是 45.42%、21.00%、19.16% 和 9.46%,四者的累计方差贡献率达 95.07%;瑞文德、铺地、库拉、海法和克尔利卡诺瓦品种的第一、第二、第三和第四主成分的累计方差贡献率分别达 93.74%、94.74%、96.17%、98.35% 和 91.13%,由此可见,这 4 个主成分基本代表了所测指标的大部分信息,可以初步作为白三叶草诱变种子萌发期不同辐照剂量间抗旱性的主导因素。

表 4 白三叶草各指标的相对值及贡献率
Table 4 Relative value and proportion of each index

品种名称 Species name	辐照剂量/Gy Radiation dosages	发芽率 Germination percentage	发芽势 Germination rate	发芽指数 Germination index	活力指数 Vitality index	胚根长 Radicle length	叶绿素 Chlorophyll content	胚根水势 Root water potential	子叶水势 Leaf water potential
胡衣阿 Huia	0	0.86	0.73	0.61	0.50	0.77	0.99	4.96	3.05
	30	0.98	0.91	0.83	0.73	0.78	1.56	1.67	2.02
	60	1.00	0.90	0.68	0.70	1.02	0.91	4.63	22.32
	90	0.95	0.82	0.67	0.55	0.83	1.04	4.33	6.96
	120	0.94	0.87	0.65	0.51	0.79	0.76	2.95	3.67
	200	0.95	0.68	0.65	0.64	0.85	0.74	1.47	6.65
	400	0.99	0.68	0.62	0.58	0.85	0.60	1.39	3.11
	600	0.99	0.86	0.73	0.79	1.20	0.97	1.50	9.47
	800	1.04	0.97	0.76	0.78	1.11	0.60	1.68	8.06
	1 000	1.07	0.93	0.74	0.63	0.80	0.67	1.54	2.62
	方差贡献 率/%	45.42	21.00	19.16	9.49	3.69	0.72	0.51	0.02
	累计方差 贡献率/%	45.42	66.42	85.58	95.07	98.75	99.47	99.98	100.00
瑞文德 Rivendel	0	1.04	1.11	0.90	0.85	0.77	1.07	4.37	11.06
	30	0.85	0.57	0.51	0.55	1.24	0.59	2.82	1.84
	60	1.13	1.09	0.90	0.81	0.78	0.57	1.76	4.17
	90	0.97	0.85	0.70	0.68	1.10	1.08	1.30	2.30
	120	1.03	1.01	0.80	0.96	1.33	0.62	0.40	2.37
	200	1.09	0.73	0.71	0.42	0.30	0.39	5.76	6.62
	400	1.07	0.74	0.51	0.49	0.80	0.50	7.56	2.34
	600	0.91	0.90	0.66	0.63	0.97	1.02	3.20	1.95
	800	0.88	0.76	0.57	0.51	0.76	0.49	6.73	2.18
	1 000	1.08	1.06	0.91	1.05	1.41	0.89	31.28	3.55
	方差贡献 率/%	46.96	24.79	13.63	8.35	3.45	2.06	0.74	0.01
	累计方差 贡献率/%	46.96	71.76	85.39	93.74	97.19	99.25	99.99	100.00

表4(续)

品种名称	辐照剂量/Gy	发芽率	发芽势	发芽指数	活力指数	胚根长	叶绿素	胚根水势	子叶水势
Species	Radiation	Germination	Germination	Germination	Vitality	Radicle	Chlorophyll	Root water	Leaf water
name	dosages	percentage	rate	index	index	length	content	potential	potential
铺地 Prop	0	0.98	0.89	0.64	0.53	0.80	0.77	4.05	2.59
	30	0.81	0.73	0.65	0.59	0.98	1.11	2.21	6.85
	60	1.20	1.07	0.90	0.81	0.92	1.37	1.53	8.13
	90	1.01	0.99	0.70	0.62	0.85	0.96	2.25	77.49
	120	0.98	0.84	0.69	0.63	0.87	1.03	2.35	12.83
	200	1.02	1.02	0.84	0.53	0.54	0.84	3.60	6.34
	400	0.87	0.86	0.67	0.67	0.89	0.79	1.25	-0.79
	600	0.77	0.79	0.60	0.52	0.78	0.89	1.62	1.10
	800	0.86	0.75	0.68	0.49	0.58	0.67	1.24	6.94
	1 000	0.93	0.87	0.67	0.46	0.74	0.48	3.65	5.64
方差贡献率/%	46.64	25.96	12.72	9.41	3.16	1.18	0.71	0.20	
累计方差贡献率/%	46.64	72.61	85.33	94.74	97.91	99.09	99.80	100.00	
库拉 Caucasian	0	0.79	0.66	0.57	0.38	0.33	1.55	11.80	18.25
	30	1.44	1.78	2.05	2.50	1.26	1.03	6.43	3.48
	60	0.96	1.09	0.86	0.86	0.99	0.66	5.21	4.39
	90	0.52	0.41	0.40	0.36	0.82	0.80	3.11	1.01
	120	0.46	0.42	0.38	0.23	0.50	0.61	13.91	4.89
	200	0.90	0.76	0.67	0.63	0.80	0.55	5.71	2.29
	400	1.27	1.55	1.11	1.20	0.90	0.89	1.57	4.17
	600	1.18	1.13	0.98	1.08	1.09	0.72	5.61	1.91
	800	0.96	0.94	0.72	0.64	0.89	1.04	8.51	2.81
	1 000	2.03	1.09	1.09	1.23	1.13	0.97	3.95	5.72
方差贡献率/%	57.69	26.11	8.23	4.15	2.35	0.99	0.49	0	
累计方差贡献率/%	57.69	83.8	92.03	96.17	98.52	99.51	100	100	
海法 Haifa	0	1.49	1.47	1.27	1.44	1.01	0.53	2.30	1.36
	30	1.60	1.69	1.48	1.60	1.06	0.47	2.27	7.00
	60	2.31	2.83	2.65	3.13	0.80	0.74	20.27	12.51
	90	0.71	0.57	0.57	0.57	1.03	0.69	14.66	13.34
	120	0.50	0.52	0.34	0.34	0.91	1.02	3.22	2.47
	200	0.47	0.45	0.37	0.35	0.82	0.77	1.40	14.01
	400	0.71	0.59	0.51	0.44	0.70	0.88	2.90	2.64
	600	1.22	1.10	0.95	1.01	1.34	0.74	7.53	2.14
	800	0.80	0.74	0.58	0.72	1.12	0.78	6.83	1.76
	1 000	0.97	1.01	0.72	0.72	1.10	0.68	3.96	1.13
方差贡献率/%	58.13	20.28	10.40	9.53	1.54	0.07	0.04	0	
累计方差贡献率/%	58.13	78.41	88.81	98.35	99.89	99.96	100.00	100.00	

表 4(续)

品种名称 Species name	辐照剂量/Gy Radiation dosages	发芽率 Germination percentage	发芽势 Germination rate	发芽指数 Germination index	活力指数 Vitality index	胚根长 Radicle length	叶绿素 Chlorophyll content	胚根水势 Root water potential	子叶水势 Leaf water potential
克尔利	0	0.85	0.70	0.50	0.46	0.92	0.55	33.18	4.76
卡诺瓦	30	0.92	0.92	0.71	0.69	0.99	0.77	1.94	3.51
Clilkanova	60	0.92	0.90	0.65	0.57	0.92	0.42	1.46	2.38
	90	0.93	0.84	0.98	0.84	0.98	0.56	21.27	14.24
	120	1.00	0.91	0.69	0.55	0.73	0.78	4.59	80.58
	200	1.02	0.95	0.61	0.57	0.87	0.61	1.70	2.68
	400	1.17	1.11	0.85	0.93	1.33	0.71	39.81	71.64
	600	0.89	0.75	0.59	0.55	0.77	0.76	60.05	4.56
	800	0.94	0.93	0.77	0.72	0.98	0.86	1.87	2.29
	1 000	0.97	0.61	0.59	0.53	0.94	0.57	108.02	9.72
	方差贡献 率/%		49.55	17.15	14.41	10.01	6.37	2.13	0.34
累计方差 贡献率/%		49.55	66.71	81.12	91.13	97.50	99.63	99.97	100.00

2.4 白三叶草种子萌发期抗旱性的综合评价

根据上述主成分分析法,得知白三叶草各品种的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数这 4 个指标的累计方差贡献率均在 91.13%~98.35%,说明这 4 个主成分基本代表了所测指标的 91.13% 以上的信息,因此可以用这 4 个指标做为白三叶草诱变种子萌发期的主要抗旱评价指标,采用标准差系数赋予权重法,以发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数这 4 个主成分分析得出的指标为依据,对白三叶草诱变种子萌发期的抗旱性进行综合评价。从表 5 中可以看出,在 PEG 120 g/L 胁迫下,白三叶草各品种不同辐照剂量的综合抗旱排名不一致,胡衣阿品种 D 值范围为 0.05~0.87,辐照剂量最好的是 800 Gy;瑞文德品种 D 值范围为 0.06~0.95,其中辐照剂量最好的是 1 000 Gy;铺地品种 D 值范围为 0.09~1.00,最好的是 60 Gy;库拉品种 D 值范围为 0.00~0.91,辐照剂量最好的是 30 Gy;海法品种 D 值范围为 0.00~1.00,60 Gy 辐照剂量最好;克尔利卡诺瓦品种 D 值范围为 0.04~0.92,其中 400 Gy 辐照剂量最好。

3 讨论与结论

有关⁶⁰Co- γ 射线辐照对种子发芽率的影响有许

多报道,有学者在日日春^[14]和毛竹^[15]的研究中认为低剂量⁶⁰Co- γ 辐照种子可提高种子的发芽率。另外,也有研究者^[16]在油菜种子萌发期进行 PEG 处理,PEG 的质量浓度对种子的发芽率有明显的影响,随着 PEG 质量浓度的增加,发芽率呈现先升高后降低的趋势,而根长、芽长,发芽指数则呈现极显著降低的趋势。本试验通过对胡衣阿品种进行复因子方差分析,发现除 PEG 质量浓度对子叶水势的影响不显著外,PEG 质量浓度及辐照剂量对各测定指标的影响达显著和极显著水平,并且各处理组合对发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数的影响达极显著水平。采用标准差系数赋予权重法进行综合评价,根据综合评价值(D 值)筛选最佳处理,先筛选胡衣阿品种的最佳 PEG 胁迫质量浓度,发现各 PEG 质量浓度胁迫下的 D 值均低于对照(PEG 0 g/L),其中 120 g/L 胁迫的 D 值仅次于对照,为最佳的 PEG 胁迫质量浓度。

已有学者报道,萌发耐旱指数、相对发芽率、相对发芽势和根长胁迫指数可作为番茄种子^[17]、油菜种子^[18]萌发期抗旱性鉴定指标,本试验以白三叶草各品种在 PEG 120 g/L 胁迫下的各指标值为根据,进行主成分分析,得出以下结论:胡衣阿、瑞文德、铺地、库拉、海法和克尔利卡诺瓦品种的第一、第二、第

表5 白三叶草 PEG 120 g/L 胁迫的综合评价

Table 5 Comprehensive evaluation of white clover on PEG 120 g/L stress

辐照剂量/ Gy Radiation dosages	隶属函数值 Subordinative function				D 值 Evaluation D	排序 Order
	发芽率 Germination percentage	发芽势 Germination rate	发芽指数 Germination index	活力指数 Vitality index		
胡衣阿 Huia						
0	0.00	0.20	0.00	0.00	0.05	10
30	0.55	0.80	1.00	0.78	0.80	2
60	0.66	0.76	0.34	0.69	0.61	5
90	0.45	0.50	0.26	0.16	0.32	6
120	0.37	0.67	0.17	0.03	0.28	8
200	0.45	0.01	0.20	0.49	0.29	7
400	0.61	0.00	0.05	0.27	0.21	9
600	0.61	0.61	0.57	1.00	0.72	3
800	0.83	1.00	0.68	0.98	0.87	1
1 000	1.00	0.85	0.58	0.46	0.69	4
权重 weight	0.20	0.23	0.28	0.30		
铺地 Prop						
0	0.47	0.46	0.15	0.21	0.30	6
30	0.09	0.00	0.17	0.38	0.18	8
60	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1
90	0.54	0.76	0.34	0.45	0.51	3
120	0.47	0.32	0.30	0.49	0.40	4
200	0.58	0.86	0.80	0.20	0.58	2
400	0.24	0.38	0.23	0.60	0.38	5
600	0.00	0.20	0.00	0.16	0.09	10
800	0.20	0.07	0.28	0.09	0.16	9
1 000	0.37	0.41	0.23	0.00	0.22	7
权重 weight	0.20	0.21	0.27	0.32		
海法 Haifa						
0	0.55	0.43	0.40	0.40	0.44	3
30	0.61	0.52	0.49	0.45	0.52	2
60	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1
90	0.13	0.05	0.10	0.08	0.09	7
120	0.01	0.03	0.00	0.00	0.01	9
200	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	10
400	0.13	0.06	0.07	0.04	0.07	8
600	0.41	0.27	0.27	0.24	0.29	4
800	0.18	0.12	0.10	0.14	0.13	6
1 000	0.27	0.24	0.16	0.14	0.20	5
权重 weight	0.24	0.24	0.27	0.25		

表 5(续)

辐照剂量/ Gy	隶属函数值				D 值 Evaluation D	排序 Order
	Subordinative function					
	发芽率 Germination percentage	发芽势 Germination rate	发芽指数 Germination index	活力指数 Vitality index		
瑞文德 Rivendel						
0	0.68	1.00	0.98	0.70	0.84	3
30	0.00	0.00	0.00	0.21	0.06	10
60	1.00	0.97	0.98	0.62	0.88	2
90	0.45	0.52	0.47	0.41	0.46	5
120	0.65	0.81	0.72	0.86	0.77	4
200	0.87	0.29	0.50	0.00	0.38	7
400	0.78	0.31	0.01	0.11	0.26	8
600	0.20	0.61	0.38	0.34	0.39	6
800	0.12	0.36	0.15	0.15	0.19	9
1 000	0.84	0.90	1.00	1.00	0.95	1
权重 weight	0.20	0.23	0.28	0.29		
库拉 Cauca sian						
0	0.21	0.19	0.12	0.07	0.14	8
30	0.62	1.00	1.00	1.00	0.91	1
60	0.31	0.50	0.29	0.28	0.34	5
90	0.03	0.00	0.02	0.06	0.03	9
120	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	10
200	0.28	0.26	0.17	0.18	0.22	7
400	0.52	0.83	0.44	0.43	0.55	3
600	0.46	0.53	0.36	0.37	0.43	4
800	0.32	0.39	0.20	0.18	0.27	6
1 000	1.00	0.50	0.43	0.44	0.58	2
权重 weight	0.23	0.24	0.27	0.26		
克尔利卡诺瓦 Clilkanova						
0	0.00	0.19	0.00	0.00	0.04	10
30	0.22	0.63	0.42	0.48	0.44	4
60	0.21	0.60	0.30	0.23	0.33	7
90	0.25	0.47	1.00	0.81	0.67	2
120	0.47	0.62	0.38	0.19	0.39	5
200	0.52	0.68	0.23	0.25	0.39	6
400	1.00	1.00	0.72	1.00	0.92	1
600	0.11	0.28	0.18	0.20	0.19	8
800	0.29	0.65	0.55	0.56	0.52	3
1 000	0.37	0.00	0.17	0.16	0.17	9
权重 weight	0.20	0.22	0.28	0.30		

三和第四主成分的累计方差贡献率达91%以上,因此相对发芽率、相对发芽势、相对发芽指数、相对活力指数可以作为白三叶草诱变种子的主要抗旱鉴定指标。

抗旱性是由多种因素相互作用构成的一个非常复杂的综合性状^[19-21],其鉴定指标涉及形态、生理和生化等方面^[22],并且也有学者发现鸭茅在种子萌发期和苗期的抗旱评价结果存在一定差异^[23],因此,运用多指标及多个生长时期进行抗旱鉴定会更加全面、准确,但在操作过程中,会受试验条件及工作量等限制,探索简单、直观和可靠的科学抗旱评价方法具有重要意义。本试验以主成分分析得出的4个主要抗旱鉴定指标为依据,对PEG 120 g/L胁迫下的各指标值进行综合分析,对各辐照剂量的D值从高到底进行排序,并筛选最佳辐照剂量。结果表明,胡衣阿品种各辐照剂量的D值均高于0 Gy,并且800和30 Gy的D值最高分别为0.87、0.80;瑞文德品种1000和60 Gy的D值高于0 Gy;铺地品种60、90、120、200和400 Gy的D值高于0 Gy,其中60 Gy辐照的D值最高为1.00;库拉品种90和120 Gy辐照的D值低于0和30 Gy的D值最高为0.91;海法品种60、30 Gy的D值高于0 Gy,分别为1.00、0.52;克尔利卡诺瓦品种各辐照剂量的D值均高于0 Gy处理,其中400 Gy的D值最高为0.92。因此,胡衣阿、瑞文德、铺地、库拉、海法和克尔利卡诺瓦品种的最佳辐照剂量分别为800、1000、60、30、60和400 Gy。由此可见,各品种的最佳辐照剂量不同,这可能跟辐照诱变具有不定向性有关,也有可能跟各品种的基因有关,关于这方面内容有待进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] 轩春来,郑智龙.白三叶生物学特性及栽培技术[J].河南林业科技,2004,24(3):18
- [2] 鲍健寅.优良饲草白三叶[J].湖北畜牧兽医,1999(2):38
- [3] 陈宝书.牧草饲料作物栽培学[M].北京:中国农业出版社,2001:142-145
- [4] 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
- [5] 牛瑞明,王燕,吴桂丽,等.裸燕麦种子萌发对模拟干旱胁迫的响应及其耐旱性综合评价[J].麦类作物学报,2011,31(4):753-756
- [6] 安永平,强爱玲,张媛媛,等.渗透胁迫下水稻种子萌发特性及抗旱性鉴定指标研究[J].植物遗传资源学报,2006,7(4):421-426
- [7] Bouslama M. Stress in sobeans[J]. Evaluation Crop Sci,1984,24:933-937
- [8] Ildiko Kerepesi, Gabor Galiba. Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings[J]. Crop Science,2000,40(2):482-487
- [9] 武冲,仲崇禄,张勇,等.聚乙二醇模拟干旱对三种木麻黄种子萌发的影响[J].中南林业科技大学学报,2011(2):22-26
- [10] 杨楠.干旱及铅胁迫对主要造林树种种子萌发与幼苗生长的影响[D].杨凌:西北农林科技大学,2012
- [11] Blum A. Breeding crop varieties for stress environments [J]. Critical Review of Plant Science,1984(2):199-238
- [12] 景蕊莲,昌小平.小麦抗旱种质资源的遗传多样性[J].西北植物学报,2003,23(3):410-416
- [13] 陆宇,袁庆华.三叶草属牧草苗期耐盐性评价[J].草原与草坪,2009(1):15-19
- [14] 罗以贵,强继业,强影影,等.⁶⁰Co- γ 射线辐照对日日春种子发芽率及幼苗生长的影响[J].种子,2007,26(2):72-74
- [15] 蔡春菊,高健,牟少华.⁶⁰Co- γ 辐射对毛竹种子活力及早期幼苗生长的影响[J].核农学报,2007,21(5):436-440
- [16] 郭雪松,唐章林.PEG胁迫下42个油菜品种(系)耐旱性的评价[J].西南大学学报:自然科学版,2009,31(10):1-10
- [17] 梁玉芹,刘云,宋炳彦,等.番茄种子萌发期耐旱性鉴定指标的研究[J].华北农学报,2010,25(增刊):117-120
- [18] 张霞,谢小玉.PEG胁迫下甘蓝型油菜种子萌发期抗旱鉴定指标的研究[J].西北农业学报,2012,21(2):72-77
- [19] 严美玲,李向东.不同花生品种的抗旱性比较鉴定[J].花生学报,2004,33(1):8-12
- [20] 张海燕,李贵全.大豆抗旱性与生理生态指标关系的研究[J].中国农学通报,2005,21(8):140-142
- [21] Slafer G A, Araus J L. Improving wheat responses to abiotic stresses[M]. Saskatchewan: University Extension Press,1998:201-203
- [22] 孙彩霞,沈秀瑛.作物抗旱性鉴定指标及数量分析方法的研究进展[J].中国农学通报,2002,18(1):49-51
- [23] 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

责任编辑:苏燕