

金线莲资源遗传多样性分析及耐热性评价

李和平, 张树河, 林江波, 邹 晖, 戴艺民*

福建省农业科学院亚热带农业研究所, 福建漳州 363005

摘要: 金线莲 (*Anoectochilus roburghii*) 是具有极高经济价值的珍稀濒危兰科药用植物, 高温是制约其广泛生产栽培的首要限制因子, 选育耐热品种是抵御高温热害最经济有效的措施之一。本研究利用目标起始密码子多态性 (SCoT) 分子标记技术对 24 份金线莲种质资源进行遗传多样性分析, 并利用多元统计分析的方法对其中 20 份样本进行耐热性评价。遗传多样性分析结果显示: 在遗传系数 0.602 水平上, 可以把金线莲种质分成 I 和 II 两大类, I 类分成 A 和 B 两个亚群, 台湾金线莲 (TJ) 与其他资源遗传距离较远, 单独归为 II 类; A 亚群中除了 W 来源于云南, 其他均为福建西北部收集的资源; B 亚群主要来自闽南地区和广西。通过对 20 份金线莲资源 5 个生理参数测定, 发现热处理后叶绿素含量和 SOD 活性明显下降, 相对电导率明显升高, 而丙二醛和可溶性蛋白含量热处理后各资源表现不一。利用多元统计分析方法进行耐热性初步评价, 结果显示, TL、L1、A20、GZ1 等 4 份资源较为耐热, TJ、HX、L、M、A21 等 5 份资源不耐热。

关键词: 金线莲; SCoT; 遗传多样性; 耐热性

中图分类号: S567.239 文献标识码: A

Analysis of Genetic Diversity and Evaluation of Heat Resistance of *Anoectochilus roburghii*

LI Heping, ZHANG Shuhe, LIN Jiangbo, ZOU Hui, DAI Yimin*

Institute of Subtropical Agriculture, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Zhangzhou, Fujian 363005, China

Abstract: *Anoectochilus roburghii* is a rare and endangered medicinal orchid with high economic value. High temperature is the primary limiting factor for its extensive production and cultivation. Breeding heat-resistant varieties is one of the most economical and effective measures to resist heat damage caused by high temperature. In this study, we analyzed the genetic diversity of 24 *A. roburghii* germplasm resources by Start codon targeted polymorphism (SCoT) molecular markers, and evaluated the heat tolerance of 20 samples by multivariate statistical analysis. The results of genetic diversity analysis showed that at the genetic coefficient was 0.602, *A. roburghii* germplasm could be divided into two groups: I and II, Group I was divided into two subgroups A and B, *Anoectochilus formosanus* was classified into Group II alone. In subgroup A, except W from Yunnan, all the other resources were collected in the north and west of Fujian. Subgroup B mainly came from Southern Fujian and Guangxi. The cluster diagram showed that the relatives of *A. roburghii* from the same origin was close, and the presence or absence of reticulated veins was not the basis for the classification. Five physiological parameters were measured in the 20 samples. It was found that the chlorophyll content and SOD activity decreased obviously after heat treatment, and the relative conductance increased obviously, while the malondialdehyde and soluble protein contents of each resource were different after heat treatment. The preliminary evaluation of heat resistance was conducted by the multivariate statistical analysis method, and the results showed that four resources (TL, L1, A20, GZ1) were heat resistant, while five resources (TJ, HX, L, M, A21) were not.

Keywords: *Anoectochilus roburghii* (Wall.) Lindl.; Start codon targeted polymorphism (SCoT); genetic diversity; heat

收稿日期 2022-08-22; 修回日期 2022-10-18

基金项目 福建省省属公益类科研院所基本科研专项 (No. 2020R1030003, No. 2022R1030003); 福建省农业科学院南药植物科技创新团队项目 (No. CXTD2021001-2)。

作者简介 李和平 (1982—), 男, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 经济作物育种与分子生物学。*通信作者 (Corresponding author): 戴艺民 (DAI Yimin), E-mail: dymtten@163.com。

resistance

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.12.015

金线莲 [*Anoectochilus roburghii* (Wall.) Lindl] 是兰科开唇兰属多年生常绿草本植物, 产于中国、日本、斯里兰卡、印度、尼泊尔及东南亚各国。开唇兰属植物全世界有 40 余种, 我国有 20 种, 2 个变种, 其中部分种的全草在民间用以入药, 为珍贵的中药材^[1-3]。金线莲来源广泛, 有些种外形较相似, 且金线莲叶片表面又存在从无金色网纹到有金色网纹的过渡类型^[2]。因此, 仅通过外形来鉴定金线莲存在极大难度。郑纯等^[4]曾做过福建金线莲和广西金线莲的生药鉴定, 但用传统的形态组织学无法区别二者遗传上的差异。利用分子标记技术对金线莲资源进行遗传关系分析不仅可以排除生长环境和生长期的影响, 还有助于杂交育种亲本的选择, 为金线莲资源优良基因的发掘和利用提供参考。

金线莲对生态环境要求严格, 特别是对温度较为敏感, 适宜生长温度为 20~25 °C, 超过 35 °C 不适宜其生长^[5]。金线莲人工种植主要集中在我国南方省区, 夏季长期高温是普遍现象, 而冬季低温天数较少, 夏季高温是制约金线莲广泛生产栽培的首要限制因子, 选育耐热品种是抵御高温热害最经济有效的措施之一。目前, 多元统计分析已在植物耐热性评价中有较多应用, 如小麦耐热性^[6]、玉米耐热性^[7]和香葱耐热性^[8]等, 使用该方法获得的耐热性鉴定结果与品种在田间的耐热表现基本一致, 可有效地避免单一耐热指标的片面性与局限性, 较全面地评价作物的耐热性。本研究对收集的金线莲资源在组织培养阶段进行耐热性评价, 可以尽可能地确保样本生长环境和个体大小的一致性, 并缩短优异种质的筛选时间。

1 材料与方法

1.1 材料

分子标记使用材料: 24 份金线莲资源取自福建省农业科学院亚热带农业研究所组培室培养的金线莲组培苗, 采集各样品的正常叶片, 装入编号袋, 在-80 °C 冰箱中保藏备用。

试验耐热性生理参数测定材料: 由于 4 份金线莲资源是新收集资源, 样品量不足, 且田间种

植各资源同一时间采样时长势不一致, 个体大小存在较大差异, 因此取 20 份金线莲资源组培苗进行相关生理参数测定与分析。挑选长势一致的金线莲, 利用恒温光照培养箱, 设置温度 35 °C、相对湿度 70%、光照 4000~5000 lx、每天光照时间 12 h 等条件, 培养时间 5 d, 然后全株采样, 混合后分成 3 个生物学重复。

试剂: 2 × PCR Mix 购自北京聚合美生物技术有限公司, CTAB (十六烷基三甲基溴化铵)、RNase A、琼脂糖、引物等分子生物学使用试剂购自生工生物工程(上海)股份有限公司, 其他生理参数测定试剂购自漳州市腾信化玻仪器有限公司, 均为国产分析纯试剂。

1.2 方法

1.2.1 SCoT 分析 使用 CTAB 法提取金线莲叶片基因组 DNA, 挑选 12 条多态性较好的 SCoT 引物(表 2)对 24 份供试材料进行 PCR 扩增反应, 优化后的 PCR 反应体系为 (20 μL): 2×PCR Mix 10 μL, DNA 50 ng 模板, 10 μmol/L 引物 1.5 μL。反应程序为: 94 °C 预变性 3 min; 94 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 90 s, 循环 35 次; 72 °C 终延伸 5 min, PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳后, 在紫外凝胶成像系统上拍照保存。

SCoT 数据分析: 根据电泳图结果, 对扩增清晰且易于辨认的条带采用 0-1 系统记录其位置, 在同一迁移位置, 有条带 (强带或清晰弱带) 记为 “1”, 无条带记为 “0”。并建立分子数据矩阵, 利用 NTSYS-pc2.1 软件分析, 计算遗传相似系数并按 UPGMA 方法聚类分析。

1.2.2 生理参数测定 参照李合生^[9]的方法测定金线莲叶片中叶绿素含量、相对电导率、丙二醛含量、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和可溶性蛋白含量。

1.3 数据处理

采用 WPS Office Excel 软件进行原始数据的整理和简单分析; 采用 SPSS 17.0 数据处理软件进行相关性分析、主成分分析和聚类分析。

公式如下:

如果指标与耐热性呈正相关 (叶绿素、SOD

活性、可溶性蛋白、脯氨酸):

$$\text{隶属函数值 } U(X_j) = \frac{(X_j - X_{\min})}{(X_{\max} - X_{\min})} \quad (1)$$

如果指标与耐热性呈负相关(相对电导率、丙二醛):

$$\text{隶属函数值 } U(X_j) = 1 - \frac{(X_j - X_{\min})}{(X_{\max} - X_{\min})} \quad (2)$$

式中, $j=1, 2, \dots, n$, X_j 表示第 j 个指标; X_{\min} 表示第 j 个指标的最小值; X_{\max} 表示第 j 个指标的最大值; 权重 (W) 和综合评价 (D) 计算公式参见汤佳乐等^[10]的方法。

2 结果与分析

2.1 收集保持金线莲资源描述

从福建省内外收集 24 份金线莲资源, 于实验室离体保存和大棚种植, 大棚种植 4 个月, 对正常金线莲植株进行拍照(图 1)和形态学描述

(表 1)。本研究选用稳定性较好的叶脉、叶片上表面颜色和叶片长宽比 3 个指标来描述金线莲形态学特征。形态学特征参考中国植物志, 初步将叶脉分为金色、白色及无变色叶脉, 叶片形状按长宽比区分, 叶表面分为紫红、黄色及绿色。结果可以看出大多数金线莲资源有金色叶脉, 少量资源无叶脉, 只有台湾金线莲叶脉为白色, 叶片长宽比最大的是资源 B, 比值达到 1.45, 叶片为卵形, 而叶片长宽比最小的是资源 M, 比值达到 0.98, 叶片为卵圆形。

2.2 金线莲资源遗传多样性分析

从 40 条 SCoT 引物中挑选 12 条多态性较好、条带清晰且稳定的引物, 引物扩增条带多态率见表 2, 其中引物 SCoT9 的扩增图谱见图 2。通过数据分析, 构建金线莲种质资源的系统进化树(图 3)。聚类结果发现在遗传系数 0.602 的水平上, 可以把金线莲种质分成两大类: I 类和 II 类, 其中 I



图中字母代码表示不同来源, 详细信息见表 1。

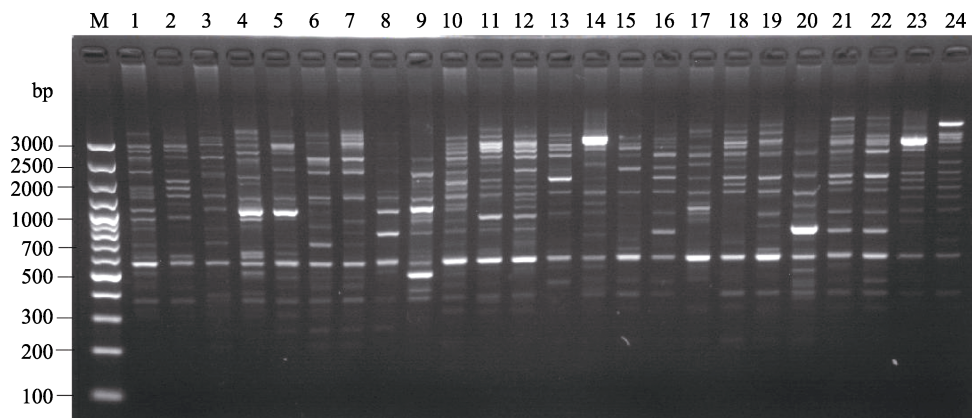
The letter codes in the figure represent different sources, detailed in Table 1.

图 1 不同来源金线莲资源图谱

Fig. 1 Resource graphics of *A. roburghii* from different sources

表 1 金线莲资源信息
Tab. 1 Resource Information of *Anoectochilus roburghii*

序号 No.	代码 Code	来源 Source	表型描述 Description
1	M1	福建龙岩梅花山	无变色叶脉，叶上表面绿色，叶长宽比 0.98
2	M	福建龙岩梅花山	有金线，叶上表面绿色，叶片长宽比 1.03
3	A20	厦门沐辰生物科技有限公司	有金线，叶上表面绿带淡红色，叶片长宽比 1.22
4	A21	厦门沐辰生物科技有限公司	有金线，叶上表面绿带淡红色，叶片长宽比 1.34
5	B	福建长泰变种 1	有金线，叶上表面紫红中部渐变白色，叶片长宽比 1.45
6	C	福建长泰	有金线，叶上表面紫红色，叶片长宽比 1.17
7	HX	福建长泰自交种子	无变色叶脉，叶片黄色，叶片长宽比 1.34
8	O	福建长泰变种 2	有金线，叶上表面紫红中间白色，叶片长宽比 1.16
9	TJ	台湾	白色叶脉，叶上表面绿色，叶片长宽比 1.14
10	D	福建戴云山	有金线，叶上表面紫红色，叶长宽比 1.01
11	TL	福建泰宁	无变色叶脉，叶上表面绿色，叶片长宽比 1.07
12	TL1	福建泰宁	有金线，叶上表面绿色，叶片长宽比 1.25
13	Y	福建永安	有金线，叶上表面淡红色，叶片长宽比 1.05
14	HJ	厦门沐辰生物科技有限公司	有金线，叶上表面紫红色，叶片长宽比 1.25
15	K	福建沙县富口	有金线，叶上表面绿色，叶片长宽比 1.03
16	F	福建尤溪	有金线，叶上表面绿色，叶片长宽比 1.03
17	H	广西河池	有金线，小叶，叶上表面绿色，叶片长宽比 1.21
18	N	福建沙县南阳乡	有金线，叶上表面绿色，叶片长宽比 1.14
19	W	云南文山	有金线，叶上表面淡红色，叶片长宽比 1.61
20	G	广西	有金线，叶上表面淡红色，叶片长宽比 1.26
21	L	福建长汀梨子垵	有金线，叶上表面淡红色，叶片长宽比 1.11
22	L1	福建长汀梨子垵	无变色叶脉，叶上表面绿色，叶片长宽比 1.31
23	GZ1	福建光泽	无变色叶脉，叶上表面绿色，叶片长宽比 1.05
24	GZ2	福建光泽	有金线，叶上表面绿色，叶片长宽比 1.28



M: 100 bp plus DNA ladder; 1~24 按资源编号顺序。

M: 100 bp plus DNA ladder; 1-24 by resource number.

图 2 24 份供试材料的 SCoT-PCR 扩增结果(引物 SCoT9)

Fig. 2 SCOT-PCR amplification results of 24 test materials (primer SCoT9)

类分成 A 和 B 两个亚类群，台湾金线莲遗传距离较远，单独归为一类。A 亚群中除了 W 来源于云南，其他均为福建西北部收集的资源，W 与 HJ 和 N 关系较近；从聚类图中可以看出，同来源地的金线莲亲缘关系较近，且有无网状叶脉不作为

金线莲分类依据，如 M 和 M1，TL 和 TL1，L 和 L1，GZ1 和 GZ2。B 亚群主要来自闽南地区和广西，其中大部分是来自福建长泰和厦门，图中显示 C 和 HX 亲缘关系较近（HX 来源于 C 自交种子繁殖），这说明 SCoT 分子标记技术在金线莲亲

表 2 本研究中使用的引物信息
Tab. 2 Primer information used in this study

序号 No.	引物名称 Primer	序列 (5'-3') Sequence(5'-3')	总条带数 Total bands	多态性条带数 Polymorphic bands	多态率 Polymorphism rate/%
1	SCoT3	CAACAATGGCTACCACCG	7	5	71.43
2	SCoT5	CAACAATGGCTACCACGA	11	6	54.55
3	SCoT7	CAACAATGGCTACCACGG	10	6	60.00
4	SCoT9	CAACAATGGCTACCAGCA	16	9	56.25
5	SCoT12	ACGACATGGCGACCAACG	8	8	100.00
6	SCoT20	ACCATGGCTACCACCGCG	10	3	30.00
7	SCoT24	CACCATGGCTACCACCAT	6	4	66.67
8	SCoT25	ACCATGGCTACCACCGGG	10	5	50.00
9	SCoT28	CCATGGCTACCACCGCCA	8	5	62.50
10	SCoT33	CCATGGCTACCACCGCAG	8	5	62.50
11	SCoT34	ACCATGGCTACCACCGCA	9	6	66.67
12	SCoT39	ACGACATGGCGACCAGCG	11	8	72.73

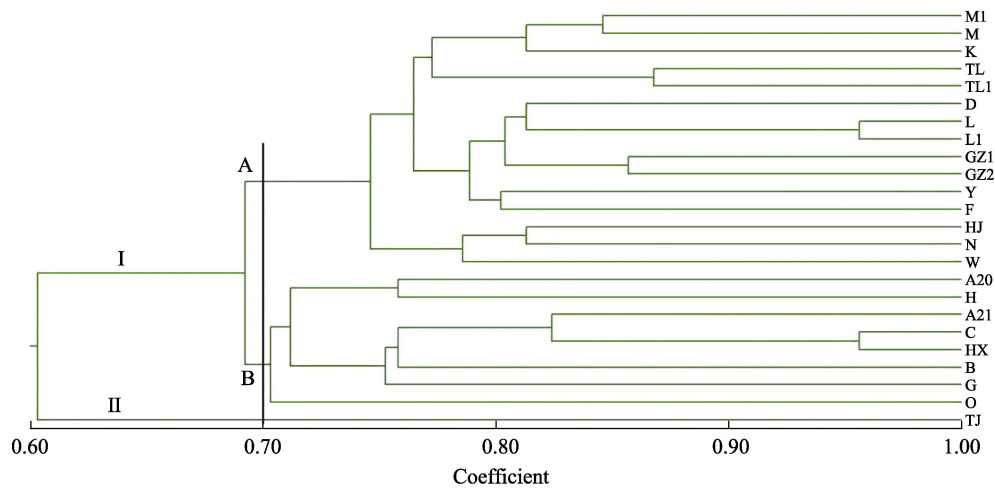


图 3 24 份金线莲供试材料的 SCoT 标记聚类图
Fig. 3 SCoT marker clustering diagram of 24 *A. roburghii*

缘关系鉴定方面是可以使用的较好的标记方法。

2.3 金线莲各单项指标测定结果分析

由表 3 可知, 热处理后所有资源叶绿素含量均有降低, 其中降幅最大的是 HX、TJ 和 H, 降幅不明显的是 C、G 和 M1; 相对电导率均有升高, 其中涨幅最大的是 M1、TJ 和 W, 涨幅最不明显的是 HJ、N 和 GZ1; 丙二醛含量热处理后各资源变异明显, 其中涨幅最大的是 L、W 和 C, 降幅最大的是 M、GZ2 和 N; 热处理后金线莲资源 SOD 活性降低, 降幅最大的是 GZ1、A20 和 W, 降幅较少的是 K、HX 和 TJ; 可溶性蛋白含量热处理前后各资源表现不一, 其中涨幅最大的是 A20、TL 和 GZ1, 降幅最大的是 A21、M 和 TJ。

2.4 耐热性综合评价

利用 SPSS 17.0 软件对 5 个单项指标的耐热系数进行主成分分析(表 4), 按初始特征值大于 1 确定主成分个数为 3 个, 前 3 个综合指标的贡献率分别为 0.316、0.253、0.209, 累计贡献率达 0.778, 表明前 3 个综合指标反映了原指标的绝大部分信息, 可以代替原来的 5 个生理指标, 其余可以忽略不计。根据主成分分析的表达式和公式求出每个金线莲种质材料的所有综合指标值 $CI(x)$ 和隶属函数值 $U(x)$, 详见表 5。用公式计算各个种类的综合耐热能力的大小, 根据 D 值(表 5)对其耐热性进行强弱排序。其中 TL 的 D 值最大, 表明其耐热性最强; 其次为 L1, 台湾金线莲 TJ 的 D 值最小, 表明台湾金线莲 TJ 的耐热性最

表 3 金线莲各指标测定结果
Tab. 3 The results of each index determination of *A. chinensis*

品种 Variety	叶绿素 Chl/(mg·g ⁻¹)			相对电导率 REC/%			丙二醛含量 MDA content/(μmol·g ⁻¹)			SOD 活性 SOD activity/(U·g ⁻¹)			可溶性蛋白含量 Soluble protein content (mg·g ⁻¹)		
	CK	处理 Treat- ment	变化率 Rate of- change/%	CK	处理 Treat- ment	变化率 Rate of- change/%	CK	处理 Treat- ment	变化率 Rate of- change/%	CK	处理 Treat- ment	变化率 Rate of- change/%	CK	处理 Treat- ment	变化率 Rate of- change
A20	1.97	1.74	-11.55	17.80	37.26	109.40	10.15	10.15	0.01	221.81	68.53	-69.11	1.18	1.46	22.98
A21	1.63	1.13	-30.49	20.32	26.50	30.42	8.05	7.10	-11.78	170.12	77.30	-54.56	1.04	0.35	-66.46
F	2.34	2.03	-13.12	16.67	35.64	113.81	7.74	6.81	-12.08	180.02	85.35	-52.59	1.39	1.44	3.39
K	2.71	2.58	-4.81	18.32	29.02	58.35	9.57	8.41	-12.15	122.82	110.48	-10.05	1.60	1.65	3.19
M	2.60	2.28	-12.27	19.17	34.46	79.75	9.97	6.76	-32.13	119.52	88.42	-26.02	1.62	0.72	-55.53
N	2.42	2.24	-7.29	20.33	21.08	3.67	10.02	8.80	-12.23	154.35	113.02	-26.78	1.88	1.86	-1.23
C	1.65	1.63	-1.29	9.32	23.52	152.48	22.29	26.97	20.99	122.11	61.11	-49.96	2.26	2.23	-1.47
G	2.44	2.41	-1.38	8.93	20.13	125.33	21.46	22.52	4.91	184.96	103.61	-43.98	1.83	1.83	0.22
H	2.62	1.53	-41.67	10.90	15.52	42.38	26.66	30.14	13.03	148.47	55.56	-62.58	2.42	2.70	11.41
M1	2.32	2.29	-1.36	10.89	58.51	437.15	19.29	18.60	-3.58	167.25	101.94	-39.05	2.39	1.50	-37.31
W	2.17	1.72	-20.63	10.26	29.08	183.39	17.99	21.83	21.34	159.43	55.09	-65.44	1.71	1.80	5.42
HJ	1.84	1.55	-15.62	12.65	12.69	0.34	18.31	20.77	13.45	176.68	109.69	-37.92	2.06	2.05	-0.77
HX	0.01	0.01	-49.81	12.75	16.43	28.86	3.74	3.73	-0.17	150.91	123.28	-18.31	1.74	1.46	-16.04
L	3.15	1.90	-39.58	9.54	11.11	16.38	14.13	18.77	32.84	101.49	61.55	-39.35	2.60	2.03	-22.11
L1	2.23	2.13	-4.88	9.54	12.14	27.15	28.51	26.50	-7.05	128.05	56.15	-56.15	2.60	2.97	13.95
Y	1.42	1.20	-15.42	12.04	29.11	141.69	11.55	13.22	14.45	99.77	51.25	-48.63	2.45	1.83	-25.29
TL	2.53	2.29	-9.60	6.20	7.68	23.82	20.83	22.04	5.79	67.03	40.03	-40.27	1.05	1.95	85.96
GZ1	2.89	2.12	-26.58	23.42	24.57	4.91	25.24	22.57	-10.56	152.08	9.06	-94.04	2.06	2.46	19.08
GZ2	2.48	1.75	-29.68	18.75	25.52	36.14	22.61	18.86	-16.59	155.67	64.86	-58.33	2.07	1.68	-18.54
TJ	1.97	1.13	-42.62	10.12	30.03	196.64	20.98	20.29	-3.27	204.48	167.30	-18.18	1.14	0.58	-49.34

表 4 各综合指标的系数及贡献率
Tab. 4 Coefficient and contribution rate of each comprehensive index

综合指标系数 Composite index coefficient	叶绿素 Chl	相对电导率 REC	丙二醛含量 MDA content	SOD 活性 SOD activity	可溶性蛋白含量 Soluble protein content	贡献率 Contribution rate	累积贡献率 Cumulative contribution rate
CI1	0.121	0.342	-0.569	-0.634	0.851	0.316	0.316
CI2	0.882	-0.673	0.042	0.015	0.185	0.253	0.569
CI3	0.358	0.585	0.707	0.090	0.254	0.209	0.778

差。采用最大距离法对 D 值进行聚类分析, 可将 20 个金线莲种质材料划分为 3 类: TL、L1、A20、GZ1 为 I 类, D 值大于 0.6, 属耐热类型; F、K、N、C、G、H、W、HJ、GZ2、M1、Y 作为 II 类, D 值大于 0.4 小于 0.6, 属中度耐热类型; 其余 5 个金线莲种质 D 值小于 0.4, 属不耐热类型。

3 讨论

本研究挑选 12 条 SCoT 引物从 24 份金线莲资源中获得 70 条清晰的多态性条带, 根据个体间

UPGMA 聚类分析, 发现福建、广西和云南收集的资源未依据地理差异单独聚类, 体现了不同地区个体遗传差异与地理距离的相关性较小, 而台湾金线莲与国内收集的金线莲资源遗传距离较远, 被聚类在最外层。秦朋^[11]、叶炜等^[12]的研究结果同样显示福建、广西和云南金线莲种质资源间亲缘关系较近, 台湾金线莲与国内金线莲遗传距离较远的现象。此外, 民间将无线类型金线莲称为公、有线类型金线莲称为母, 郑纯等^[4]发现有线与无线金线莲种质在显微及理化分析方面存

表 5 各种类的综合指标值及综合评价
Tab. 5 Comprehensive index values and comprehensive evaluation of various categories

品种 Variety	CI1	CI2	CI3	UX1	UX2	UX3	D 值 D-value	综合评价 Comprehensive evaluation
A20	55.2	73.3	164.3	0.703	0.770	0.450	0.657	耐热
A21	-30.1	21.3	162.5	0.197	0.106	0.424	0.228	不耐热
F	19.7	69.8	169.4	0.493	0.725	0.525	0.577	中度耐热
K	-0.9	66.7	185.8	0.370	0.686	0.765	0.579	中度耐热
M	-63.3	55.5	186.1	0.000	0.543	0.770	0.384	不耐热
N	17.0	41.0	201.8	0.477	0.358	1.000	0.579	中度耐热
C	30.6	82.9	146.5	0.557	0.893	0.189	0.567	中度耐热
G	22.6	80.5	159.2	0.510	0.862	0.375	0.588	中度耐热
H	51.8	29.1	156.2	0.683	0.206	0.331	0.433	中度耐热
M1	-26.0	91.3	140.9	0.221	1.000	0.107	0.444	中度耐热
W	42.6	69.7	137.2	0.628	0.724	0.053	0.505	中度耐热
HJ	39.2	30.3	181.6	0.608	0.221	0.704	0.508	中度耐热
HX	-4.7	13.0	162.9	0.348	0.000	0.430	0.257	不耐热
L	21.7	13.9	150.4	0.504	0.011	0.246	0.274	不耐热
L1	46.4	57.2	189.0	0.651	0.564	0.812	0.666	耐热
Y	5.7	65.0	139.9	0.409	0.664	0.092	0.407	中度耐热
TL	105.2	64.6	199.1	1.000	0.659	0.960	0.878	耐热
GZ1	75.4	27.4	191.9	0.823	0.184	0.855	0.624	耐热
GZ2	8.3	33.3	177.3	0.425	0.259	0.641	0.429	中度耐热
TJ	-49.1	42.9	133.6	0.084	0.382	0.000	0.158	不耐热
权重				0.406	0.325	0.269		

在一致性,认为二者是同种植物,而胡珊梅等^[13]通过 RAPD 分子标记发现二者存在较大差异,建议分别独立成种。本研究中,有线和无线类型金线莲是与相同来源地的不同单株聚类在进化树末端,表明有线与无线的金线莲基因型较为相似,是同种植物,此结果与郑纯等研究结果一致。

高温是影响植物生长发育的重要非生物因子,当温度高于植物正常生长温度时,植物就会产生热激反应,产生各种生理生化变化,如改变细胞稳定性,改变激素和次级代谢物的合成,甚至死亡^[14-15]。通过对种质材料的耐热性进行筛选、鉴定和评级归类,可以为耐热性育种提供优异的种质材料。目前,我国在金线莲品种耐热性鉴定及评价标准方面尚未规范统一,缺乏可操作性。鉴定指标的合理选择是耐逆性评价的关键。前人关于冬瓜幼苗^[16]、灌浆期小麦^[6]、棉花苗期^[17]等从生理机制角度对植物耐逆性进行准确评价,为金线莲耐热性鉴定提供了参考指标。由于种质资源间的差异,金线莲生长缓慢、开花结果难,形态学性状测量过程复杂、耗时耗力。因此,本研究

从生理机制角度对其耐热性进行评价,选择叶绿素含量、相对电导率、丙二醛含量、SOD 活性和可溶性蛋白含量 5 个生理生化指标,通过主成分分析将众多指标转化为 3 个综合指标,在主成分得分的基础上利用模糊隶属函数法计算综合评价 D 值,依据 D 值判断耐高温能力的强弱,从中筛选了 4 份耐热种质材料。本研究在金线莲中对其耐热性进行初步评价,筛选出的耐热资源将为耐热金线莲品种选育提供参考。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第 17 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 204-227.
Editorial Committee of Chinese Flora, Chinese Academy of Sciences. The flora of China: vol.17[M]. Beijing: Science Press, 1999: 204-227. (in Chinese)
- [2] 郑纯, 黄以钟, 季莲芳. 金线莲文献考证、原植物及商品调查[J]. 中草药, 1996, 27(3): 169-170.
ZHENG C, HUANG Y Z, JI L F. Pharmacognostic studies on Jinxianlian, bencaologic review, resource survey and taxonomic identification[J]. Chinese Traditional and Herbal

- Drugs, 1996, 27(3): 169-170. (in Chinese)
- [3] 孔祥海. “药王”金线莲的自然资源初步研究[J]. 中草药, 2001, 32(2): 155-157.
KONG X H. Preliminary study on natural resources of *Anoectochilus roxburghii*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2001, 32(2): 155-157. (in Chinese)
- [4] 郑纯, 黄以钟, 潘馨, 季莲芳. 金线莲的生药鉴定[J]. 中药材, 1997, 20(11): 8-9.
ZHENG C, HUANG Y Z, PAN X, JI L F. Pharmacognostic identification of *Anoectochilus roxburghii*[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 1997, 20(11): 8-9. (in Chinese)
- [5] 牛蓓, 傅华龙, 卿人韦, 叶华勋, 刘英华, 兰利琼. 温度对组培金线莲生理生化影响的研究[J]. 四川大学学报(自然科学版), 2004, 41(4): 842-844.
NIU B, FU H L, QIN R W, YE H X, LIU Y H, LAN L Q. Studies on physiological and biochemical reactions of cultured *Anoectochilus roxburghii* to different temperatures[J]. Journal of Sichuan University (Natural Science Edition), 2004, 41(4): 842-844. (in Chinese)
- [6] 李敏, 苏慧, 李阳阳, 李金鹏, 李金才, 朱玉磊, 宋有洪. 黄淮海麦区小麦耐热性分析及其鉴定指标的筛选[J]. 中国农业科学, 2021, 54(16): 3381-3393.
LI M, SU H, LI Y Y, LI J P, LI J C, ZHU Y L, SONG Y H. Analysis of heat tolerance of wheat with different genotypes and screening of identification indexes in Huang-Huai-Hai Region[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2021, 54(16): 3381-3393. (in Chinese)
- [7] 李淑君, 张丕辉, 付忠军, 祁志云, 杨华, 金川, 董昕. 玉米花期不同种质资源耐热性鉴定与分析[J]. 玉米科学, 2019, 27(4): 22-31.
LI S J, ZHANG P H, FU Z J, QI Z Y, YANG H, JIN C, DONG X. Identification and analysis for the thermotolerance of different germplasm in maize at anthesis[J]. Journal of Maize Sciences, 2019, 27(4): 22-31. (in Chinese)
- [8] 郭元元, 张力, 文俊丽, 蒋月喜, 李洋, 车江旅, 宋焕忠, 陈琴, 唐娟, 陈振东. 11 份越夏香葱种质资源农艺性状鉴定及耐热性评价[J]. 中国蔬菜, 2022(2): 33-39.
GUO Y Y, ZHANG L, WEN J L, JIANG Y X, LI Y, CHE J L, SONG H Z, CHEN Q, TANG J, CHEN Z D. Agronomic character identification and heat tolerance evaluation of 11 accessions of over summer chives (*Allium fistulosum* L. var. *Caespitosum* Makino)[J]. China Vegetables, 2022(2): 33-39. (in Chinese)
- [9] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
LI H S. Experimental principles and techniques of plant physiology and biochemistry[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000. (in Chinese)
- [10] 汤佳乐, 卜范文, 张平, 林文力, 吴念庆, 徐海. 7 种猕猴桃种质耐热性综合评价[J]. 湖南农业科学, 2018(12): 21-25.
TANG J L, BU F W, ZHANG P, LIN W L, WU N Q, XU H. Comprehensive evaluation of 7 kiwifruit germplasm to heat resistance[J]. Hunan Agricultural Sciences, 2018(12): 21-25. (in Chinese)
- [11] 秦朋. 金线莲遗传多样性和有效成分分析[D]. 福州: 福建农林大学, 2013.
QIN P. Analysis on genetic diversity and active components of *Anoectochilus roxburghii*[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2013. (in Chinese)
- [12] 叶炜, 江金兰, 李永清, 雷伏贵, 周建金, 胡启镛, 魏道智. 金线兰及近缘种植物遗传多样性 ISSR 分子标记分析[J]. 植物遗传资源学报, 2015, 16(5): 1045-1054.
YE W, JIANG J L, LI Y Q, LEI F G, ZHOU J J, HU Q B, WEI D Z. Analysis of genetic diversity in *Anoectochilus roxburghii* and its relative species using ISSR molecular markers[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2015, 16(5): 1045-1054. (in Chinese)
- [13] 胡珊梅, 张启国, 周涵韬, 阮元彬. RAPD 法在金线莲的鉴别研究中的应用[J]. 中草药, 33(10): 949-950.
HU S M, ZHANG Q G, ZHOU H T, RUAN Y B. Identification of two species of *Anoectochilus* BL. Jinxianlian by RAPD[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 33(10): 949-950. (in Chinese)
- [14] 靳路真, 王洋, 张伟, 邱红梅, 陈健, 候云龙, 马晓萍, 王跃强, 谢甫绶. 大豆品种(系)耐热性鉴定及分级评鉴[J]. 中国油料作物学报, 2016, 38(1): 77-87.
JIN L Z, WANG Y, ZHANG W, QIU H M, CHEN J, HOU Y L, MA X P, WANG Y Q, XIE F T. Grading evaluation on heat-tolerance in soybean and identification of heat-tolerant cultivars[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2016, 38(1): 77-87. (in Chinese)
- [15] 高英波, 张慧, 单晶, 薛艳芳, 钱欣, 代红翠, 刘开昌, 李宗新. 吐丝前高温胁迫对不同耐热型夏玉米产量及穗发育特征的影响[J]. 中国农业科学, 2020, 53(19): 3954-3963.
GAO Y B, ZHANG H, SHAN J, XUE Y F, QIAN X, DAI H C, LIU K C, LI Z X. Effects of pre-silking high temperature stress on yield and ear development characteristics of different heat-resistant summer maize cultivars[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2020, 53(19): 3954-3963. (in Chinese)
- [16] 姚金晓, 杨飞, 彭红坤, 虞梦艳, 严中琪, 王呈阳. 冬瓜幼苗对高温胁迫的响应及其耐热性评价[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(13): 121-125.
YAO J X, YANG F, PENG H K, YU M Y, YAN Z Q, WANG C Y. Response of wax gourd seedlings to high temperature stress and evaluation of heat tolerance[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2021, 49(13): 121-125. (in Chinese)
- [17] 武辉, 侯丽丽, 周艳飞, 范志超, 石俊毅, 阿丽艳, 肉孜, 张巨松. 不同棉花基因型幼苗耐寒性分析及其鉴定指标筛选[J]. 中国农业科学, 2012, 45(9): 1703-1713.
WU H, HOU L L, ZHOU Y F, FAN Z C, SHI J Y, A L Y, ROU Z, ZHANG J S. Analysis of chilling-tolerance and determination of chilling-tolerance evaluation indicators in cotton of different genotypes[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(9): 1703-1713. (in Chinese)