

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2021.02.005

苜蓿抗寒性与根系抗氧化酶活性相关性分析

张玉霞¹, 丛百明², 王显国^{3*}, 张庆昕¹, 杜晓艳¹, 田永雷⁴

(1. 内蒙古民族大学, 内蒙古 通辽 028041; 2. 内蒙古通辽市农牧业局, 内蒙古 通辽 028000;
3. 中国农业大学草业科学与技术学院, 北京 100083; 4. 内蒙古自治区农牧科学院, 内蒙古 呼和浩特 010013)

摘要:为探究不同苜蓿材料的抗寒性与低温胁迫下苜蓿根颈抗氧化酶活性变化的关系,本研究在科尔沁沙地种植黄花苜蓿(*Medicago falcata* L.)和 4 个紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)品种,越冬前挖取越冬器官并进行-10℃, -15℃, -20℃, -25℃, -30℃低温胁迫处理,以低温(4℃)贮藏为对照,测定苜蓿根颈抗氧化酶活性及相对电导率,利用相对电导率值拟合 Logistic 回归方程计算苜蓿半数致死温度(LT₅₀),进行 LT₅₀与抗氧化酶活性相关性分析。结果表明,黄花苜蓿的抗寒性强于紫花苜蓿,其中紫花苜蓿‘北极熊’品种抗寒性最强,‘骑士 T’品种最弱。LT₅₀与不同温度处理下抗氧化酶活性呈负相关,在-30℃处理下超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活性和过氧化氢酶(Catalase, CAT)活性分别与 LT₅₀呈显著和极显著负相关。综上所述,苜蓿通过提高 SOD, CAT 活性增强抗寒性, -30℃处理下的 SOD 活性和-10℃, -30℃处理下 CAT 活性可以作为衡量苜蓿抗寒性强弱的生理指标。

关键词:低温胁迫;苜蓿;抗氧化酶;抗寒性

中图分类号:S551+.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-0435(2021)02-0244-06

Correlation Analysis of Cold Resistance and Antioxidant Enzyme Activities in Alfalfa Roots

ZHANG Yu-xia¹, CONG Bai-ming², WANG Xian-guo^{3*}, ZHANG Qing-xin¹, DU Xiao-yan¹, TIAN Yong-lei⁴

(1. Inner Mongolia University for the Nationalities, Tongliao 028041, Inner Mongolia, China; 2. Agriculture and Animal Husbandry Bureau of Tongliao City, Tongliao, Inner Mongolia 028000, China; 3. College of Grassland Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100083, China; 4. College of Agriculture and Animal Husbandry, Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot, Inner Mongolia 010013, China)

Abstract: In order to explore the relationship between the cold resistance of different alfalfa materials and the changes of antioxidant enzyme activity in alfalfa root crown under low temperature stress, sickle alfalfa (*Medicago falcata* L.) and four alfalfa (*Medicago sativa* L.) varieties were planted in Horqin sandy land. Overwintering organs were harvested before winter, and were treated with -10℃, -15℃, -20℃, -25℃ and -30℃. The antioxidant enzyme activity and relative conductivity of alfalfa root neck were measured with low temperature (4℃) storage as control (CK). Fitting logistic regression equation with relative conductivity to calculate semi-lethal temperature (LT₅₀) of alfalfa. The correlation between LT₅₀ and antioxidant enzyme activity was analyzed. The results showed that the cold resistance of sickle alfalfa was stronger than that of *Medicago sativa*. Among *Medicago sativa*, 'polar bear' had the strongest cold resistance while 'Knight T' had the weakest. LT₅₀ was negatively correlated with antioxidant enzyme activities at different temperatures. The uperoxide dismutase (SOD) and Catalase (CAT) activities in alfalfa root crown under -30℃ treatment had significant and extremely significant negative correlation with LT₅₀. Conclusion: alfalfa enhanced cold resistance by increasing SOD and CAT activities. SOD activity at -30℃ and CAT activities at -10℃ and -30℃ can be used as physiological indexes of alfalfa cold resistance.

Key words: Low temperature stress; Alfalfa; Antioxidant enzymes; Cold resistance

收稿日期:2020-09-23;修回日期:2020-10-21
基金项目:内蒙古自然科学基金项目(2020MS03081);内蒙古自治区科技储备项目(2018MDCB032);国家公益性行业(农业)公益项目(201403048-2)资助
作者简介:张玉霞(1965-),女,内蒙古赤峰人,教授,博士,主要从事牧草栽培与抗性生理研究, E-mail: yuxiazhang685@163.com; * 通信作者 Author for correspondence, E-mail: grasschina@126.com

苜蓿作为优质的多年生豆科牧草(*Leguminosae* sp.)^[1],在畜牧业生产中发挥着重要作用^[2]。越冬问题虽然是长期困扰苜蓿生产的老问题,但由于近几年我国北方苜蓿种植面积不断扩大,苜蓿产业发展迅猛,越冬问题已成为制约我国北方苜蓿草地成功建植和草地可持续利用的关键问题。由于科尔沁沙地冬季积雪少,土壤温度变化剧烈,冻害频发,严重制约了该地区苜蓿产业的发展^[3]。因此,进一步探究苜蓿的越冬机制,以增加苜蓿防御冻害的能力,提高其越冬率,重新认识苜蓿抗寒性问题是必要的。

国内外关于苜蓿抗寒方面的研究表明,苜蓿越冬器官的超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(Peroxidase, POD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)是酶促防御系统的重要保护酶类,对于维护细胞膜系统的稳定性具有重要作用^[4-6],其活性的变化可作为植物的耐寒指标^[7-9],但具体什么时期或在怎样温度条件下进行鉴定尚不明确。目前

衡量苜蓿抗寒性主要指标有大田越冬率调查和室内模拟半致死温度(LT₅₀),LT₅₀采用模拟低温处理通过测定相对电导率或根系活力拟合 Logistic 方程获得,能够避开生态因子对苜蓿抗寒性的影响^[10]。为此,本试验于越冬前期挖取科尔沁沙地生境下种植的黄花苜蓿(*Medicago falcata* L.)和 4 个紫花苜蓿(*Medicago sativa*)品种的越冬器官,在程序式温度处理箱模拟低温处理,测定不同温度处理下抗氧化酶活性和相对电导率的变化,利用相对电导率拟合 Logistic 方程得出 LT₅₀,通过 LT₅₀与抗氧化酶活性变化的相关性分析,分析苜蓿的抗寒性差异及其与抗氧化酶的相关性,为苜蓿抗寒品种的筛选及抗氧化机理研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

苜蓿材料来源见表 1。

表 1 苜蓿材料名称及来源

Table 1 Name and source of alfalfa materials

材料种类	材料品种	来源
Material type	Material variety	source
黄花苜蓿	黄花苜蓿	黑龙江省农科院
Sickle alfalfa	Sickle alfalfa	Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences
紫花苜蓿	‘骑士 T’	北京佰青源畜牧业科技发展有限责任公司
alfalfa	‘Knight T’	Beijing Baiqingyuan Animal Husbandry Technology Development Co., Ltd
紫花苜蓿	‘北极熊’	北京百斯特草业有限公司
alfalfa	‘Polar bear’	Beijing Best Grass Industry Co., Ltd
紫花苜蓿	‘草原 3 号’	内蒙古农业大学
alfalfa	‘Caoyuan No. 3’	Inner Mongolia Agricultural University
紫花苜蓿	‘巨能 3010’	北京克劳沃种业有限公司
alfalfa	‘Juneng 3010’	Beijing Crowe Seed Industry Co., Ltd

1.2 试验地概况

试验地位于内蒙古民族大学科技园区,地理位置为 43°30′ N,122°27′ E,年平均气温 5.5℃,≥10℃年积温为 3 000~3 200℃,无霜期 140~150 d,年平均降水量约 375 mm,年平均风速 3.0~4.4 m·s⁻¹,土壤为沙壤土,pH 值为 8.0,土壤有机质含量 0.65%,碱解氮 36.37 mg·kg⁻¹,速效磷含量 3.81 mg·kg⁻¹,速效钾含量 78.51 mg·kg⁻¹,全氮含量 0.037%。

1.3 试验设计

采用随机区组试验设计,在科尔沁沙地的沙化草地生境下,于 2019 年 7 月 15 日种植黄花苜蓿和‘骑士 T’、‘巨能 3010’、‘草原 3 号’、‘北极熊’紫花

苜蓿,播种量 15 kg·hm⁻²,条播行距 15 cm,小区面积(2 m×5 m),3 次重复,四周设保护行。灌溉方式为指针式喷灌,肥料在播种时一次性施入,氮磷钾施肥量分别为 45 kg·hm⁻²(纯氮)、200 kg·hm⁻²(P₂O₅)、200 kg·hm⁻²(K₂O),供试肥料分别为尿素(N 46.3%)、重过磷酸钙(P₂O₅ 44.6%)、钾肥为氯化钾(K₂O 60%)。2019 年 11 月 15 日(封冻前期)每个小区随机挖取 50 株长势均匀的苜蓿越冬器官,4℃冰箱中储存备用。每个处理分别取 20 株于程序式低温处理箱采用-10,-15,-20,-25 和-30℃模拟低温处理,以 0℃为起点,4℃·h⁻¹的速率降温,到达设定温度后保持 6 h,然后再按照 4℃·h⁻¹速率升温至 4℃,在冰箱 4℃下保存 12 h,以低温(4℃)贮藏为对照(CK),测定抗氧化酶活性和

相对电导率,并依据测定其相对电导率拟合 Logistic 方程,计算半致死温度。

1.4 测定指标及方法

采用 DDS-302 电导率仪测定电导率并计算相对电导率^[11];采用 NBT 光还原法测定 SOD 活性^[11];采用愈创木酚法测定 POD 活性^[12];采用紫外吸收法测定 CAT 活性^[11]。

1.5 数据分析

试验数据用 Microsoft Excel 软件处理、做图和制作表格,SPSS 17.0 软件进行方差显著性分析及拟合 Logistic 方程。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫下苜蓿相对电导率的变化及 LT₅₀

如表 2 所示,随着胁迫温度的降低,苜蓿根颈的相对电导率呈增加趋势,其中‘骑士 T’、‘巨能 3010’、‘草原 3 号’和‘北极熊’等紫花苜蓿品种根颈的相对电导率则在-15℃低温处理开始显著增加($P<0.05$);黄花苜蓿的相对电导率则在-20℃低温处理开始显著增加($P<0.05$)。在 CK 和-10℃低温处理下不同苜蓿之间的相对电导率无显著差异,-15℃低温处理下黄花苜蓿根颈相对电导率显著低于‘巨能

3010’和‘北极熊’($P<0.05$),-20℃处理下黄花苜蓿和‘北极熊’相对电导率显著低于‘骑士 T’和‘巨能 3010’($P<0.05$),-25℃和-30℃低温处理下黄花苜蓿根颈的相对电导率则分别显著低于‘骑士 T’和‘巨能 3010’($P<0.05$)。根据苜蓿根颈相对电导率结合 Logistic 回归分析,计算半数致死温度,黄花苜蓿的抗寒性强于紫花苜蓿,4 个紫花苜蓿品种的抗寒性为‘北极熊’>‘草原 3 号’>‘巨能 3010’>‘骑士 T’。

2.2 低温胁迫下不同苜蓿根颈 SOD 活性的变化

由表 3 可知,在不同低温处理下,‘骑士 T’、‘巨能 3010’、‘草原 3 号’苜蓿根颈的 SOD 活性呈先增加后降低的变化趋势,且均在-25℃低温处理下苜蓿根颈的 SOD 活性最强,与-30℃处理差异不显著。‘北极熊’和黄花苜蓿根颈 SOD 活性则随着处理温度的降低呈不断增加趋势,其中‘骑士 T’和黄花苜蓿则在-20℃处理下开始显著增加,‘巨能 3010’、‘草原 3 号’和‘北极熊’在-25℃处理开始显著增加。-20℃低温处理下黄花苜蓿根颈 SOD 活性显著高于‘巨能 3010’($P<0.05$),-25℃处理下黄花苜蓿根颈 SOD 活性显著高于‘骑士 T’($P<0.05$)。-30℃处理下黄花苜蓿的 SOD 活性显著高于‘骑士 T’、‘巨能 3010’、‘草原 3 号’。因此-25℃和-30℃低温处理下苜蓿根颈的 SOD 酶活性可以作为鉴定苜蓿抗寒性的生理指标。

表 2 低温胁迫下苜蓿根颈相对电导率(%)的变化及 LT ₅₀ 值(℃)					
Table 2 Changes of relative conductivity (%) of alfalfa root neck and LT ₅₀ value (℃) under low temperature stress					
处理温度 Processing temperature	紫花苜蓿品种 Alfalfa cultivars				黄花苜蓿 Sickle alfalfa
	‘骑士 T’ ‘Knight T’	‘巨能 3010’ ‘Grassland 3’	‘草原 3 号’ ‘Grassland 3’	‘北极熊’ ‘Polar bear’	
CK	10.59±0.93 ^{e/a}	13.1±0.62 ^{d/a}	15.79±5.41 ^{e/a}	14.15±6.07 ^{d/a}	10.04±0.86 ^{d/a}
-10℃	11.48±2.04 ^{e/a}	14.41±2.57 ^{d/a}	18.71±2.15 ^{e/a}	18.42±4.79 ^{d/a}	12.47±1.69 ^{d/a}
-15℃	26.57±2.42 ^{d/ab}	36.84±4.91 ^{c/a}	28.92±5.22 ^{d/ab}	31.19±2.06 ^{c/a}	16.71±7.49 ^{d/b}
-20℃	46.07±7.25 ^{c/a}	40.38±4.57 ^{c/ab}	37.46±3.39 ^{c/bc}	32.15±2.57 ^{c/c}	35.27±4.3 ^{c/c}
-25℃	61.83±8.38 ^{b/a}	53.77±2.92 ^{b/ab}	55.02±5.24 ^{b/ab}	50.92±3.46 ^{b/ab}	48.66±2.4 ^{b/b}
-30℃	72.25±5.01 ^{a/ab}	75.11±8.44 ^{a/a}	69.02±4.77 ^{a/ab}	69.67±1.62 ^{a/ab}	63.90±1.82 ^{a/b}
LT ₅₀	-16.59℃	-17.39℃	-17.71℃	-18.01℃	-18.45℃

注:‘/’前不同小写字母表示同一苜蓿材料在不同低温处理下差异显著性($P<0.05$);‘/’后不同小写字母表示在同一低温处理下不同苜蓿材料的差异显著性($P<0.05$)。下同

Note: Different lowercase letters before ‘/’ indicate that the same variety has significant difference under different low temperature treatments at the 0.05 level; different lowercase letters after ‘/’ indicate the significant difference among different alfalfa varieties under the same low temperature treatment at the 0.05 level. The same as below

表 3 低温胁迫下苜蓿根颈 SOD 活性的变化

Table 3 Changes of SOD activity in alfalfa root neck under low temperature stress/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$

处理温度 Processing temperature	紫花苜蓿品种 Alfalfa cultivars				黄花苜蓿 Sickle alfalfa
	‘骑士 T’	‘巨能 3010’	‘草原 3 号’	‘北极熊’	
	‘Knight T’	‘Grassland 3’	‘Grassland 3’	‘Polar bear’	
CK	76.84±8.40 ^{b/ab}	56.70±2.66 ^{c/c}	81.99±0.23 ^{b/ab}	84.49±4.02 ^{c/a}	74.59±3.68 ^{c/b}
−10℃	74.38±2.11 ^{b/b}	63.70±3.09 ^{bc/c}	89.63±5.74 ^{b/a}	78.47±9.48 ^{c/b}	74.98±1.54 ^{c/b}
−15℃	85.10±9.57 ^{ab/a}	75.87±20.83 ^{bc/a}	84.92±13.47 ^{b/a}	87.11±11.83 ^{c/a}	85.44±30.20 ^{c/a}
−20℃	100.28±7.61 ^{a/ab}	80.16±11.39 ^{b/c}	85.77±3.51 ^{b/bc}	88.87±8.00 ^{c/bc}	114.13±14.28 ^{b/a}
−25℃	97.34±10.59 ^{a/b}	111.38±6.36 ^{a/ab}	110.17±6.47 ^{a/ab}	105.65±4.18 ^{b/ab}	113.06±5.70 ^{b/a}
−30℃	102.14±18.12 ^{a/b}	106.18±4.84 ^{a/b}	105.34±13.96 ^{a/b}	129.31±4.99 ^{a/ab}	147.65±20.98 ^{a/a}

2.3 低温胁迫下不同苜蓿根颈 POD 的变化

由表 4 可知,黄花苜蓿和 4 个紫花苜蓿品种在低温胁迫下根颈 POD 活性均呈先升高再降低的趋势。‘骑士 T’苜蓿根颈的 POD 活性在−15℃处理下最高,显著高于对照和−30℃处理($P<0.05$),‘巨能 3010’苜蓿根颈的 POD 活性在−20℃处理下最高,显著高于其

他温度处理($P<0.05$),‘草原 3 号’、‘北极熊’和黄花苜蓿根颈的 POD 活性在−25℃处理下最高,显著高于其他温度处理($P<0.05$)。−20℃,−25℃,−30℃低温处理下黄花苜蓿根颈的 POD 活性显著高于 4 个紫花苜蓿品种($P<0.05$)。由此说明,抗寒性强的苜蓿材料 POD 活性增强温度较低,且活性较强。

表 4 低温胁迫下苜蓿根颈 POD 活性的变化

Table 4 Changes of POD activity in alfalfa root neck under low temperature stress/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1} \text{FW}$

处理温度 Processing temperature	紫花苜蓿品种 Alfalfa cultivars				黄花苜蓿 Sickle alfalfa
	‘骑士 T’	‘巨能 3010’	‘草原 3 号’	‘北极熊’	
	‘Knight T’	‘Grassland 3’	‘Grassland 3’	‘Polar bear’	
CK	260.10±57.35 ^{b/bc}	260.77±10.28 ^{c/bc}	247.33±28.27 ^{d/c}	348.27±13.74 ^{b/a}	323.47±40.77 ^{c/ab}
−10℃	301.87±40.9 ^{ab/a}	319.20±39.19 ^{bc/a}	290.80±26.46 ^{d/a}	327.33±5.22 ^{b/a}	339.43±24.30 ^{c/a}
−15℃	367.33±48.27 ^{a/a}	345.60±32.51 ^{b/a}	333.03±32.32 ^{b/a}	327.33±23.49 ^{b/a}	341.20±73.45 ^{c/a}
−20℃	364.87±31.89 ^{a/b}	453.22±14.33 ^{a/a}	310.60±3.60 ^{bc/b}	336.53±7.86 ^{b/b}	483.82±93.28 ^{b/a}
−25℃	358.27±38.45 ^{a/b}	356.27±32.40 ^{b/b}	409.20±9.06 ^{a/b}	437.07±24.00 ^{a/a}	650.40±32.25 ^{a/a}
−30℃	242.53±35.40 ^{b/c}	317.20±62.29 ^{bc/b}	237.47±6.84 ^{d/c}	366.80±36.39 ^{b/b}	420.00±42.41 ^{bc/a}

2.4 低温胁迫下不同苜蓿根颈 CAT 的变化

由表 5 可知,黄花苜蓿和 4 个紫花苜蓿品种根颈 CAT 活性随胁迫温度的降低呈先降低再升高的变化趋势。−10℃低温处理下‘草原 3 号’根颈 CAT 活性显著低于其他温度处理($P<0.05$),黄花苜蓿和其他 3 个紫花苜蓿品种在−20℃低温处理下根颈 CAT 活性最显著低于−30℃低温处理($P<0.05$)。−15℃和

−20℃低温处理下‘草原 3 号’根颈 CAT 活性显著高于黄花苜蓿和其他 3 个紫花苜蓿品种($P<0.05$),−25℃低温处理下黄花苜蓿根颈的 CAT 活性显著高于‘骑士 T’、‘巨能 3010’、‘北极熊’,−30℃低温处理下黄花苜蓿根颈 CAT 活性显著高于 4 个紫花苜蓿品种($P<0.05$)。说明‘草原 3 号’和黄花苜蓿通过增强 CAT 活性提高苜蓿的抗寒能力。

表 5 低温胁迫下苜蓿根颈 CAT 活性的变化

Table 5 Changes of CAT activity in alfalfa root neck under low temperature stress/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1} \text{FW}$

处理温度 Processing temperature	紫花苜蓿品种 Alfalfa cultivars				黄花苜蓿 Sickle alfalfa
	‘骑士 T’	‘巨能 3010’	‘草原 3 号’	‘北极熊’	
	‘Knight T’	‘Grassland 3’	‘Grassland 3’	‘Polar bear’	
CK	93.78±2.14 ^{a/ab}	104.44±7.70 ^{a/a}	72.22±5.98 ^{c/c}	72.67±4.16 ^{bc/c}	80.89±12.81 ^{c/bc}
−10℃	64.44±10.86 ^{bc/a}	62.22±17.14 ^{b/a}	67.11±4.29 ^{c/a}	71.56±5.39 ^{bc/a}	75.33±4.67 ^{c/a}
−15℃	59.11±9.83 ^{c/c}	51.56±5.05 ^{b/c}	89.56±8.01 ^{b/a}	77.11±1.39 ^{b/b}	76.11±2.87 ^{c/b}
−20℃	42.67±10.67 ^{d/c}	46.22±5.39 ^{b/c}	90.11±2.59 ^{b/a}	43.11±9.08 ^{d/c}	68.89±1.68 ^{c/b}
−25℃	56.00±9.33 ^{cd/b}	56.44±14.87 ^{b/b}	94.22±2.04 ^{b/a}	53.78±21.6 ^{cd/b}	98.22±11.65 ^{b/a}
−30℃	76.67±1.76 ^{b/d}	105.33±25.33 ^{a/c}	122.22±7.34 ^{a/bc}	132.44±8.88 ^{a/b}	168.89±6.84 ^{a/a}

2.5 低温胁迫下苜蓿根颈抗氧化酶活性与 LT₅₀ 的相关性分析

由表 6 可知,不同低温胁迫下苜蓿的抗氧化酶

活性均与 LT₅₀ 呈负相关,−30℃低温处理下苜蓿根颈 SOD 和 CAT 活性与其 LT₅₀ 的相关性达到显著($P<0.05$)和极显著水平($P<0.01$),说明−30℃低

温胁迫下 SOD 活性和 CAT 活性可以作为判断苜蓿抗寒性强弱的敏感指标。

表 6 半致死温度与苜蓿根颈中抗氧化酶活性的相关性

抗氧化酶 Antioxidase	CK	−10℃	−15℃	−20℃	−25℃	−30℃
超氧化物歧化酶 SOD	−0.21	−0.22	−0.26	−0.28	−0.77	−0.85 *
过氧化物酶 POD	−0.67	−0.65	−0.79	−0.29	−0.70	−0.76
过氧化氢酶 CAT	−0.58	−0.83 *	−0.59	−0.42	−0.58	−0.98 **

注：* 表示不同低温处理下抗氧化酶活性与 LT₅₀显著性相关($P<0.05$)；** 表示不同低温处理下抗氧化酶活性与 LT₅₀极显著性相关($P<0.01$)

Note: * indicates that the antioxidant enzyme activity under different temperature treatments is significant related to LT₅₀ at the 0.05 level; ** indicates that the antioxidant enzyme activity content under different temperature treatments is extremely significant related to LT₅₀ at the 0.01 level

3 讨论

关于苜蓿抗寒性的研究主要采用田间自然低温胁迫处理的方法^[7],通过测定翌年的越冬率衡量苜蓿抗寒性的强弱,抗寒生理指标则采用越冬期不同低温处理时期取样测定,这种方法容易受外界气候和土壤环境影响,冬季取样困难。近些年开始采用程序式试验箱人工模拟低温处理方法^[13],利用半致死温度衡量苜蓿的抗寒性,这种方法能够避开其他环境因素的影响,取样测定抗寒生理指标简便易行。本研究则通过大田培养苜蓿材料,采用人工模拟低温处理方法,获得半致死温度判定苜蓿抗寒性差异。结果表明,黄花苜蓿的抗寒性强于紫花苜蓿,4个紫花苜蓿品种的抗寒性为‘北极熊’>‘草原3号’>‘巨能3010’>‘骑士T’。

在低温胁迫下,植物的许多代谢过程都会产生超氧自由基,超氧自由基的产生导致SOD活性的增加,SOD在细胞保护酶系统中的作用是清除超氧自由基O₂^{·−},同时产生歧化性产物H₂O₂^[10]。关于低温胁迫下苜蓿根颈的SOD活性变化,孙予璐研究表明,低温处理后根系中SOD活性较对照组有所增加,说明在低温处理下,紫花苜蓿通过提高根系超氧化物歧化酶活性来清除超氧自由基^[4]。冯昌军研究表明,随着低温胁迫时间的延长,SOD活性呈先增加后降低的变化趋势,抗寒性强的苜蓿品种维持较高的SOD活性^[14]。本研究表明,随着低温冷冻胁迫温度的降低,‘巨能3010’和‘草原3号’紫花苜蓿品种的SOD活性呈先增加后降低的变化趋势,与冯昌军研究结果一致,但‘北极熊’和黄花苜蓿则呈增加变化趋势,说明不同苜蓿材料之间SOD活性差异明显,通过相关性研究表明,苜蓿抗寒性与苜蓿根颈的SOD酶活性呈正相关,这与孙予璐^[4]、申晓慧^[7]研究结果一致,且在−30℃低温胁迫处理下SOD活

性与苜蓿的抗寒性呈显著正相关,因此−30℃处理下苜蓿根颈的SOD酶活性可以作为鉴定苜蓿抗寒性的生理指标。

POD在保护酶系统中主要是降解过氧化物的作用^[14],关于POD活性在低温胁迫下的变化规律,申晓慧研究田间自然低温胁迫下POD活性的变化,表明随着气温的下降而上升,进入深冬又下降,翌年春季气温回升后,又有所回升^[7];崔国文研究表明,POD活性都表现为随着秋末温度的下降而增加,随着寒冷的加剧而迅速下降,再随着翌年温度的回升而缓慢增加,但POD活性与品种抗寒力不呈正相关关系^[15]。冯昌军研究表明,随着低温胁迫时间的延长,POD活性呈先增加后降低的变化趋势,抗寒性强的苜蓿品种维持较高的POD酶活性^[16]。本研究采用人工模拟低温处理方法研究苜蓿根颈的POD变化规律,结果表明,随着胁迫温度的降低,苜蓿根颈的POD活性呈先增加后降低的变化趋势,与申晓慧^[7]、崔国文^[15]、冯昌军^[16]的研究结果一致,但与崔国文研究不同的是,苜蓿根颈的POD活性与苜蓿的抗寒性呈正相关,这与南丽丽^[17]、申晓慧^[7]、朱爱民^[18]的研究结果一致,通过与苜蓿抗寒性的相关性分析表明,苜蓿根颈的POD活性与苜蓿抗寒性的相关性不显著,因此POD活性不能作为鉴定苜蓿抗寒性的生理指标。

CAT具有将低温胁迫下产生的H₂O₂分解成水的作用^[19]。关于低温胁迫下苜蓿根颈CAT活性的变化规律研究较少,杨秀娟采用田间自然低温胁迫处理研究,表明2个紫花苜蓿品种根颈中CAT活性均随着温度的降低而呈现先上升后下降的趋势,在初冬时达到最大值,进入深冬,则有不同程度的波动,且活性下降明显^[20]。本研究采用模拟低温胁迫处理,研究苜蓿根颈CAT活性的变化,与其结果不同,随着冷冻胁迫温度的降低,苜蓿的CAT活

性呈增加的变化趋势,在-30℃低温胁迫下黄花苜蓿和 4 个紫花苜蓿品种根颈的 CAT 活性最强,相关性分析表明,在-10℃和-30℃低温处理下苜蓿根颈的 CAT 活性与苜蓿的抗寒性呈显著正相关,说明-10℃和-30℃低温处理下苜蓿根颈的 CAT 活性都可以作为苜蓿抗寒性的鉴定指标。

4 结论

科尔沁沙化草地种植的苜蓿抗寒性为黄花苜蓿强于紫花苜蓿,4 个紫花苜蓿品种的抗寒性为‘北极熊’>‘草原 3 号’>‘巨能 3010’>‘骑士 T’。LT₅₀与不同低温胁迫下抗氧化酶活性相关性分析表明,-30℃低温处理下 SOD 活性和 CAT 活性以及-10℃低温处理下的 CAT 活性可以作为苜蓿抗寒鉴定的敏感指标。

参考文献

[1] 陶雅,孙启忠. 不同紫花苜蓿品种可溶性糖、全氮、丙二醛含量动态变化及其与抗寒性关系研究[J]. 中国农业科技导报, 2008,10(S1):56-60

[2] 朱爱民,张玉霞,王显国,等. 秋末刈割对沙地苜蓿冬季根颈抗氧化酶活性及脯氨酸含量的影响[J]. 草地学报,2018,26(1): 222-230

[3] 魏双霞,师尚礼,康文娟,等. 三个抗寒紫花苜蓿品系的寒境生理适应性研究[J]. 甘肃农业大学学报,2016,51(6):95-101

[4] 孙予璐,李建东,孙备,等. 不同品种紫花苜蓿主要抗寒生理指标对低温的响应[J]. 沈阳农业大学学报,2017,48(5):591-596

[5] 申晓慧,姜成,冯鹏,等. 六种紫花苜蓿在高寒地区抗寒生理特性差异比较研究[J]. 草地学报,2016,24(5):1131-1133

[6] 申晓慧,姜成,冯鹏,等. 6 种紫花苜蓿越冬前后几个抗寒生理指标变化研究[J]. 农学学报,2015,5(12):94-98

[7] 申晓慧,姜成,冯鹏,等. 寒区 6 个紫花苜蓿品种根系中 MDA 含

量及抗氧化酶活性的比较研究[J]. 作物杂志,2015(4):88-91

[8] 沙伟,孟凡玲,冯昌军. 10 个苜蓿品种过氧化物同工酶(POD)分析[J]. 北方园艺,2007(1):150-152

[9] 于福军,谭大海,冯昌军. 6 个美国苜蓿品种低温胁迫下 SOD、POD 活性的变化[J]. 齐齐哈尔师范高等专科学校学报,2006(3):101-102

[10] 张小英,卫智军,陈立波. 四个紫花苜蓿品种对秋冬低温条件的生理适应性. 中国草地学报,2008,30(3):48-51

[11] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社, 2009,163-173

[12] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2005,282-283

[13] 朱爱民,张玉霞,王显国,等. 8 个苜蓿品种抗寒性的比较[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2019,47(1):45-52

[14] Leipner J, Fracheboud Y, Stamp P. Effect of growing season on the photosynthetic apparatus and leaf antioxidative defenses in two maize genotypes of different chilling tolerance[J]. Environmental and Experimental Botany,1999,42(2):129-139

[15] 崔国文. 紫花苜蓿田间越冬期抗寒生理研究[J]. 草地学报, 2009,17(2):145-150

[16] 冯昌军,罗新义,沙伟,等. 低温胁迫对苜蓿品种幼苗 SOD、POD 活性和脯氨酸含量的影响[J]. 草业科学,2005(6):29-32

[17] 南丽丽,师尚礼,陈建纲. 不同根型苜蓿根系对低温胁迫的响应及其抗寒性评价[J]. 中国生态农业学报,2011,19(3):619-625

[18] 朱爱民,张玉霞,王显国,等. 沙地生境下苜蓿生理生化特性对低温的响应及与抗寒性的关系[J]. 草业科学,2019,36(10): 2556-2568

[19] Ping X A, Zhong G L, Dong M F, *et al.* Involvement of antioxidant defense system in chill hardening-induced chilling tolerance in *Jatropha curcas* seedlings[J]. Acta Physiologiae Plantarum,2013,35(1):153-160

[20] 杨秀娟. 紫花苜蓿抗寒性评价及其对秋冬季节低温适应性[D]. 北京:北京林业大学,2006:30-54

(责任编辑 闵芝智)