

DOI:10.11686/cyxb2024386

http://cyxb.magtech.com.cn

陈宁, 包凤轩, 赵辉祥, 等. 寒冷区苏打盐碱生境下紫花苜蓿越冬期根颈的生理特性. 草业学报, 2025, 34(9): 78—86.

CHEN Ning, BAO Feng-xuan, ZHAO Hui-xiang, *et al.* Physiological characteristics of the alfalfa root collar during overwintering under soda saline-alkali stress in cold areas. *Acta Prataculturae Sinica*, 2025, 34(9): 78—86.

## 寒冷区苏打盐碱生境下紫花苜蓿越冬期根颈的生理特性

陈宁<sup>1</sup>, 包凤轩<sup>2</sup>, 赵辉祥<sup>2</sup>, 王楠<sup>2</sup>, 姜汝玉<sup>2</sup>, 李国良<sup>2</sup>, 刘香萍<sup>2</sup>, 曲善民<sup>2</sup>, 杨伟光<sup>2\*</sup>

(1. 黑龙江八一农垦大学农学院, 黑龙江 大庆 163000; 2. 黑龙江八一农垦大学动物科技学院, 黑龙江 大庆 163000)

**摘要:**根颈是紫花苜蓿根系与茎部的过渡结构,对苜蓿返青具有重要影响。为了明确在寒冷区苏打盐碱生境下,紫花苜蓿自然越冬过程中根颈的生理特性,选取了在大庆地区越冬率存在差异性的龙牧801(越冬率96.59%)和骑士T(越冬率83.54%)两个苜蓿品种,定期监测两个苜蓿品种在大田自然越冬状态下苜蓿根颈超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性和游离脯氨酸(Pro)、可溶性蛋白(SP)、可溶性总糖(SS)、丙二醛(MDA)含量及根颈组织含水量(TWC),综合分析在苏打盐碱和冬季低温复合胁迫下的苜蓿根颈生理特性变化。结果表明:在苏打盐碱与冬季低温的复合胁迫下,随低温胁迫时间延长苜蓿根颈内TWC逐渐降低,SS、SP、Pro含量逐渐升高,均在次年2月达到峰值,龙牧801根颈SS含量更高,骑士T根颈Pro含量更高;苜蓿根颈内SOD、POD活性和MDA含量呈双峰趋势变化,龙牧801与骑士T相比根颈SOD活性更强,MDA积累量更少,寒潮下POD活性更高。综上所述,在冬季盐碱和低温复合胁迫下龙牧801能在根颈内积累更多的可溶性糖,维持根颈水分稳定,并在强低温胁迫影响时维持更强的抗氧化酶系统活性,以降低细胞膜过氧化程度,从而获得更高的越冬率。

**关键词:**越冬期;苏打盐碱;苜蓿;根颈;生理特性

## Physiological characteristics of the alfalfa root collar during overwintering under soda saline-alkali stress in cold areas

CHEN Ning<sup>1</sup>, BAO Feng-xuan<sup>2</sup>, ZHAO Hui-xiang<sup>2</sup>, WANG Nan<sup>2</sup>, JIANG Ru-yu<sup>2</sup>, LI Guo-liang<sup>2</sup>, LIU Xiang-ping<sup>2</sup>, QU Shan-min<sup>2</sup>, YANG Wei-guang<sup>2\*</sup>

1. College of Agriculture, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163000, China; 2. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163000, China

**Abstract:** The root collar or crown of alfalfa (*Medicago sativa*) is a transitional structure connecting roots and stems, and has an important role in alfalfa greening. This research aimed to clarify the physiological characteristics of the alfalfa root collar during overwintering under soda saline-alkali stress in a cold area. Two alfalfa varieties Longmu No. 801 (over-winter survival rate 96.59%) and Stockpile (over-winter survival rate 83.54%), were tested in Daqing. The activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD), and the contents of free proline (Pro), soluble protein (SP), total soluble sugar (SS), malondialdehyde (MDA) and tissue water content (TWC) in root collar of two alfalfa varieties were monitored at six time points during overwintering (late September, October, November, December, February and April) in the field. The physiological characteristics of the alfalfa

收稿日期:2024-10-10;改回日期:2024-11-25

基金项目:科技创新2030—重大项目(2022ZD04012)和学成、引进人才科研启动计划(XYB202113)资助。

作者简介:陈宁(1998—),男,河南郑州人,在读硕士。E-mail: 920724280@qq.com

\* 通信作者 Corresponding author. E-mail: Anda580@163.com

root collar in test plants under combined stresses of soda saline-alkali and low temperature in winter were analyzed using a multivariate procedure. It was found that under the combined stresses of soda saline-alkali and low temperature in winter, alfalfa root collar TWC gradually decreased with increase in the low temperature stress exposure time, and the contents of SS, SP and Pro gradually increased, reaching a peak in February of the following year. The SS content of Longmu No. 801 was higher than Stockpile, while the Pro content of Stockpile was higher than Longmu No. 801. SOD and POD activities together with MDA content in alfalfa root collars showed a bimodal winter pattern, with peaks in late November and February, and the February peak in the variety Stockpile significantly higher than Longmu No. 801 for all three parameters. Compared with Stockpile, Longmu No. 801 had stronger SOD activity and less MDA accumulation, and POD activity was higher under cold exposure. In summary, under the combined stress of soda saline and winter cold, Longmu No. 801 accumulated more SS in the root collar, maintained a more stable TWC in the root collar, and maintained stronger activities of antioxidant enzymes, than the variety Stockpile, which had lower over-winter survival. These root collar physiological characteristics are therefore indicated by our research to be linked to the variety differences in overwinter survival in saline-alkali conditions.

**Key words:** during overwintering stage; soda saline-alkali; alfalfa; root collar; physiological characteristics

在我国有大量盐碱地分布,大庆地区是黑龙江省西部松嫩平原盐渍区的典型代表,土壤盐渍化较重,属于典型的苏打盐碱区,包含轻度、中度、重度盐碱,总盐土面积 10.23 万  $\text{hm}^{2[1-2]}$ 。盐碱地作为一种有待利用的特殊土地资源,在当前我国耕地总量少、后备资源不足的国情下,改良利用盐碱地,对于促进耕地资源扩容、提质、增效具有重大意义。但盐碱地上栽培作物难以生长,而多年生牧草根系发达,能够改善土壤结构,产出的优质牧草可以增加农民收入,缓解饲草紧缺问题<sup>[3]</sup>。在众多牧草之中,紫花苜蓿(*Medicago sativa*)具有产量高和适应性强的特点,有较高抗寒和耐盐碱能力,可以广泛种植于我国的多个地区<sup>[4]</sup>。但大庆作为中高纬度地区,冬季的极端低温也是限制苜蓿种植的重要原因之一<sup>[5-6]</sup>,盐碱与低温的复合胁迫环境相较单一胁迫对苜蓿生产有着更加严重的破坏<sup>[7]</sup>。根颈作为紫花苜蓿越冬的重要器官<sup>[8]</sup>,是根与茎的连接处,对温度变化较为敏感,在越冬期内一旦死亡,即便下部根系仍然存活,苜蓿依旧无法返青<sup>[9-10]</sup>。并且根颈埋藏于地下,土壤中苏打盐碱引起的渗透胁迫与氧化损伤也会限制苜蓿地下部分对矿物质离子的吸收和向地上部分的转运<sup>[11-12]</sup>。因此研究越冬期苜蓿根颈在低温和苏打盐碱复合胁迫下的生理响应规律与特点是解决大庆地区苜蓿越冬难这一问题的关键所在。

当前紫花苜蓿根颈在低温胁迫下的生理响应已有较多成果。前人研究表明,低温胁迫下苜蓿根颈的组织含水量(tissue water content, TWC)降低,细胞渗透调节机制激活,游离脯氨酸(free proline, Pro)、可溶性总糖(soluble sugar, SS)和可溶性蛋白(soluble protein, SP)的积累量增加,以维持植物细胞内原生质与环境的渗透平衡、降低冰点减轻结冰对细胞的损害<sup>[13-15]</sup>;根颈细胞代谢过程中产生大量的活性氧导致细胞膜过氧化程度加深,引起细胞内丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量升高,激活抗氧化调节机制,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)与过氧化物酶(peroxidase, POD)活性增强,以清除产生的过量活性氧,以维持细胞内活性氧含量的平衡<sup>[14-16]</sup>。对于低温和盐碱复合胁迫下苜蓿生理响应的研究,目前主要集中在幼苗阶段,Liu 等<sup>[17]</sup>和李红等<sup>[18]</sup>对低温和盐碱复合胁迫下苜蓿幼苗生理响应的研究表明,在复合胁迫下幼苗细胞膜过氧化程度更高、渗透调节物质积累量更多、抗氧化酶活性更强。当前对于低温与苏打盐碱复合胁迫下苜蓿生理特性变化的研究多以室内盆栽试验进行,大多使用苜蓿的全株或叶片进行处理,而对大田自然越冬状态复合胁迫下苜蓿根颈的生理特性研究尚存空白。鉴于此,本研究以大庆地区越冬率较高的国内品种龙牧 801(*Medicago ruthenica* Sojak × *M. sativa* ‘Longmu No. 801’)和越冬率相对较低的引进品种骑士 T(*M. sativa* ‘Stockpile’)两个紫花苜蓿品种为试验材料,通过越冬期定期监测苜蓿根颈内渗透调节物质(SS、SP、Pro)含量、抗氧化酶(SOD、POD)活性及根颈组织含水量和丙二醛含量的变化,研究不同越冬率苜蓿品种在低温与盐碱复合胁迫下根颈的生理变化差异,综合分析复合胁迫下苜蓿根颈生理变化特性,为紫花苜蓿抗寒耐盐特性的研究提供一定的理论基础。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验材料

本研究在国内外品种中选择了具有代表性且越冬率差异显著的两份试验材料,国内育成品种为大庆地区主要种植品种‘龙牧801’,引进品种为‘骑士T’。供试苜蓿品种名称、来源、抗寒级、秋眠级以及在大庆地区的越冬率见表1。

表1 供试苜蓿材料及来源

Table 1 Source and materials of tested alfalfa

品种 Variety	来源 Source	抗寒级 Cold resistance	秋眠级 Fall dormancy	越冬率 Wintering rate (%)
龙牧801 Longmu No. 801 <i>M. ruthenica</i> Sojak × <i>M. sativa</i> ‘Longmu No. 801’ my of Agricultural Sciences	黑龙江省农业科学院 Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences	—	1.0	96.59 ± 1.04a
骑士T Stockpile <i>M. sativa</i> ‘Stockpile’	北京佰青源畜牧业科技发展有限公司 Beijing Baiqingyuan Animal Husbandry Technology Development Co., Ltd.	1.4	3.9	83.54 ± 0.99b

表中越冬率数据格式为平均值 ± 标准差,不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。The format of wintering rate data in the Table is mean ± standard deviation. Different lowercase letters indicate significant difference ( $P < 0.05$ ). —: 该品种无确定抗寒级 The variety has no definite cold resistance.

### 1.2 试验地概况

试验地设置于黑龙江省大庆市让胡路区红色草原牧场,海拔138.941 m,北纬46°27′10″,东经124°44′10″,属温带大陆性季风气候,年均气温4.2℃,年均无霜期143 d,年均风速3.8 m·s<sup>-1</sup>,年均降水量427.5 mm,年均蒸发量1635 mm,年均日照时数2726 h。样地土壤为苏打盐碱土,周边着生有虎尾草(*Chloris virgata*)、羊草(*Leymus chinensis*)和碱茅(*Puccinellia distans*)等常见耐盐碱植物,土壤轻度盐碱化,理化性质详见表2。

表2 样地土壤类型及理化性质

Table 2 Soil types and physical and chemical properties of sample area

土壤类型 Soil type	pH	电导率 Conductivity (mS·cm <sup>-1</sup> )	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> 含量 CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> content (g·kg <sup>-1</sup> )	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 含量 HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> content (g·kg <sup>-1</sup> )	Cl <sup>-</sup> 含量 Cl <sup>-</sup> content (g·kg <sup>-1</sup> )	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> 含量 SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> content (g·kg <sup>-1</sup> )	Na <sup>+</sup> 含量 Na <sup>+</sup> content (g·kg <sup>-1</sup> )	碱解氮含量 Available nitrogen (mg·kg <sup>-1</sup> )	有效磷含量 Available phosphorus (mg·kg <sup>-1</sup> )
苏打盐碱土 Soda saline-alkali soil	8.9	0.22	0.0026	0.81	0.32	0.62	1.63	102.75	12.31

### 1.3 样品采集及处理

试验自大庆地区霜降、苜蓿停止生长后开始取样,于次年春季返青时结束(2023年9月26日—2024年4月28日,采样时期及当日气温如表3所示),以2023年6月20日大田播种的骑士T和龙牧801两个紫花苜蓿品种为试验材料,定期(初期每隔30 d,后期每隔60 d)到田间取样。采用5点取样法进行随机取样,取根颈及根颈下5 cm无破损的根部,除去表面浮土,放入冰盒内迅速带回实验室,清洗后,一部分用于组织含水量测定,另一部分放入冻存管中,液氮冷冻后放入-80℃冰箱保存,末次取样结束后统一测定生

表3 采样时期及气温

Table 3 Sampling period and temperature

编号 Code	采样日期 Sampling date	最高温度 Maximum temperature (°C)	最低温度 Minimum temperature (°C)
T <sub>1</sub>	2023-09-26	22	14
T <sub>2</sub>	2023-10-28	13	2
T <sub>3</sub>	2023-11-28	-12	-18
T <sub>4</sub>	2023-12-30	-13	-17
T <sub>5</sub>	2024-02-28	-6	-15
T <sub>6</sub>	2024-04-24	18	10

理指标。

#### 1.4 指标测定

生理指标的测定方法参考史树德等<sup>[19]</sup>主编的《植物生理学实验指导》:游离脯氨酸(Pro)含量采用茚三酮法测定;可溶性总糖(SS)含量采用蒽酮法测定;可溶性蛋白(SP)含量采用考马斯亮蓝法测定;丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定;超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑法测定;过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定;组织含水量(TWC)采用烘干称重法测定。

#### 1.5 统计分析

采用Excel 2010软件进行数据处理,用GraphPad Prism 8软件作图,SPSS软件进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 越冬期内苜蓿根颈组织含水量(TWC)的变化

在越冬期内,骑士T和龙牧801根颈TWC呈先降低后升高的变化趋势,初期迅速降低, $T_3$ 至 $T_4$ 时期变化幅度较小,并在 $T_5$ 时期降到最低值,此时骑士T和龙牧801分别由初期的72.15%和72.79%降低至46.08%和56.75%,降幅达36.13%和22.04%(图1)。在 $T_2$ 、 $T_4$ 、 $T_5$ 时期,龙牧801根颈均显著高于骑士T( $P<0.05$ ),在 $T_6$ 时期极显著高于骑士T( $P<0.01$ );该结果表明,越冬期的复合胁迫下,苜蓿根颈组织水分逐渐降低,抗寒性更弱的骑士T细胞失水速率更快,并且在回温后冻融胁迫的影响下,水分进一步丧失,严重影响细胞的活性。

### 2.2 越冬期内苜蓿根颈可溶性蛋白含量(SP)的变化

在越冬期内,骑士T和龙牧801根颈SP含量在低温胁迫下逐渐升高,并在返青时迅速降低, $T_1$ 至 $T_5$ 时期SP含量逐渐升高,在 $T_5$ 时期达到峰值,较初期分别提高18.84%和12.22%(图2),含量均显著高于 $T_1$ 时期( $P<0.05$ )。在 $T_4$ 时期龙牧801根颈内SP含量显著高于骑士T( $P<0.05$ ),其余时期差异均不显著( $P>0.05$ ),这表明,在越冬期的复合胁迫下苜蓿可以提高根颈SP含量以增强自身抗寒性,但其增加幅度较小,且含量在两个品种间差异较小。

### 2.3 越冬期内苜蓿根颈可溶性总糖(SS)含量的变化

在越冬期内,骑士T和龙牧801根颈SS含量在低温胁迫下逐渐升高,并在返青时迅速降低,与根颈内SP含量变化趋势相似,均在 $T_5$ 时期达到峰值,较初期分别提高242.09%和133.13%(图3)。 $T_1$ 时期龙牧801根颈内SS含量极显著高于骑士T( $P<0.01$ ),但在 $T_2$ 时期骑士T根颈内SS含量迅速升高,显著高于龙牧801( $P<0.05$ )。在 $T_3$ 至 $T_5$ 时期骑士T根颈SS含量缓慢增加,至 $T_5$ 时期含量极显著低于龙牧801( $P<0.01$ ),这表明,在越冬期的复合胁迫下对低温更

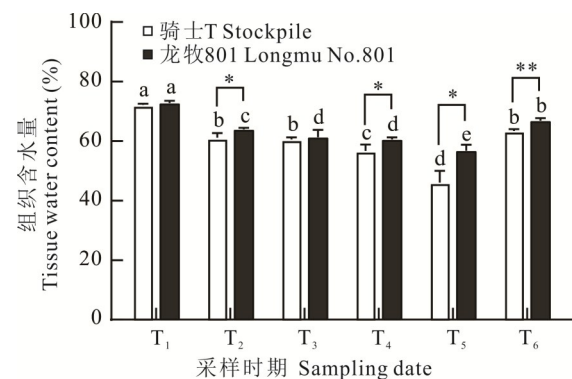


图1 越冬期内不同苜蓿品种根颈组织含水量

Fig. 1 The tissue water content in root collar of different alfalfa varieties during overwintering stage

不同小写字母表示同一品种不同时期差异显著( $P<0.05$ )。\*表示品种间差异显著( $P<0.05$ ),\*\*表示品种间差异极显著( $P<0.01$ )。横坐标中 $T_1$ ~ $T_6$ 表示不同取样时期,编号详见表3。下同。Different lowercase letters indicate significant difference among sampling date in the same variety ( $P<0.05$ ). \* indicates significant difference between two varieties ( $P<0.05$ ). \*\* indicates extremely significant level ( $P<0.01$ ).  $T_1$ — $T_6$  in the abscissa represents the code of sampling date. For the code, refer to Table 3. The same below.

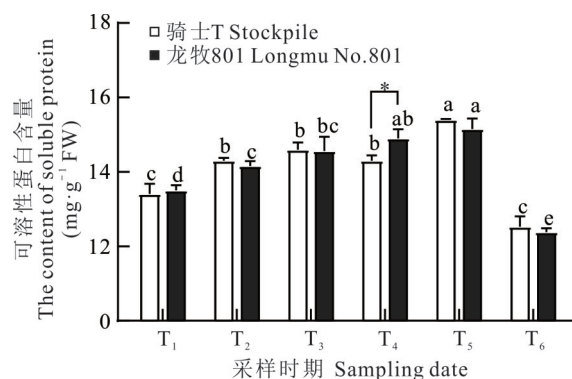


图2 越冬期内不同苜蓿品种根颈可溶性蛋白含量

Fig. 2 The soluble protein content in root collar of different alfalfa varieties during overwintering stage

FW: 该指标以鲜重为基准 This parameter is referenced to fresh weight. 下同 The same below.

敏感的骑士 T 在初期根颈 SS 积累速度更快,而峰值含量低于龙牧 801。

#### 2.4 越冬期内苜蓿根颈游离脯氨酸(Pro)含量的变化

在越冬期内,骑士 T 和龙牧 801 根颈 Pro 含量在低温胁迫下逐渐升高,并在返青时迅速降低,与根颈 SP 含量和 SS 含量变化趋势相似,也在  $T_5$  时期达到峰值,较初期分别提升 13.43 和 4.87 倍(图 4)。在整个越冬过程中,仅未受低温胁迫的  $T_1$  时期和恢复生长后的  $T_6$  时期龙牧 801 根颈 Pro 含量极显著高于骑士 T ( $P < 0.01$ ),在越冬过程中的  $T_2$ 、 $T_3$  和  $T_5$  时期骑士 T 均极显著( $P < 0.01$ )高于龙牧 801。该结果表明,在越冬期的复合胁迫下,对温度更敏感的骑士 T 根颈 Pro 积累速率与积累量均高于龙牧 801。

#### 2.5 越冬期内苜蓿根颈丙二醛(MDA)含量的变化

越冬期内,骑士 T 根颈内 MDA 含量在  $T_2$  时期显著高于龙牧 801 ( $P < 0.05$ ),并在  $T_3$ 、 $T_5$  和  $T_6$  时期极显著高于龙牧 801 ( $P < 0.01$ , 图 5)。在  $T_3$  时期,两个苜蓿品种根颈 MDA 含量均达到峰值,较初期分别增加 98.18% 和 67.07%,后在  $T_4$  时期显著降低 ( $P < 0.05$ )。  $T_5$  时期,骑士 T 根颈内 MDA 含量较  $T_4$  时期显著升高 ( $P < 0.05$ ),而龙牧 801 变化幅度较小,差异不显著 ( $P > 0.05$ )。该结果表明,在越冬期的复合胁迫下,越冬率较低的骑士 T 细胞膜过氧化程度更高、受损更严重,特别在受寒潮影响的  $T_3$  时期和低温胁迫转变为冻融胁迫的  $T_5$  时期,此时其细胞膜受损程度远高于龙牧 801。

#### 2.6 越冬期内苜蓿根颈超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化

在越冬期内,两个供试苜蓿品种根颈 SOD 活性相邻时期间变化显著 ( $P < 0.05$ , 图 6)。其中龙牧 801 在  $T_3$  时期达到峰值,较初期提升 55.20%,极显著高于同期骑士 T ( $P < 0.01$ )。骑士 T 在  $T_5$  时期达到峰值,与初期相比提升幅度较大,达 74.79%,极显著高于同期龙牧 801 ( $P < 0.01$ ),且显著高于  $T_3$  时期。这表明,越冬初期,龙牧 801 能维持更高的 SOD 活性以缓解初期强降温引起的损伤;越冬后期,随温度回升,骑士 T 根颈受冻融胁迫影响更严重,需要维持更高的 SOD 活性以更快清除胁迫下生成的超氧阴离子。

#### 2.7 越冬期内苜蓿根颈过氧化物酶(POD)活性的变化

在越冬期内,两个供试苜蓿品种根颈 POD 活性变化趋势存在较大差异(图 7)。骑士 T 根颈内 POD 与 SOD 活性和 MDA 含量变化趋势相同,分别在  $T_3$  和  $T_5$  时期达到峰值,较初期提升 49.64% 和 53.68%;龙牧 801 根颈

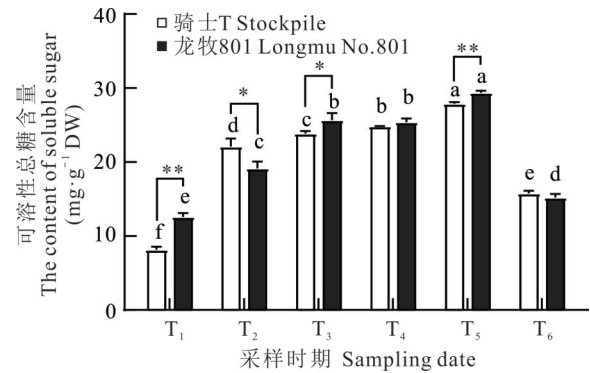


图 3 越冬期内不同苜蓿品种根颈可溶性总糖含量

Fig. 3 The soluble sugar content in root collar of different alfalfa varieties during overwintering stage

DW: 该指标以干重为基准 This parameter is referenced to dry weight.

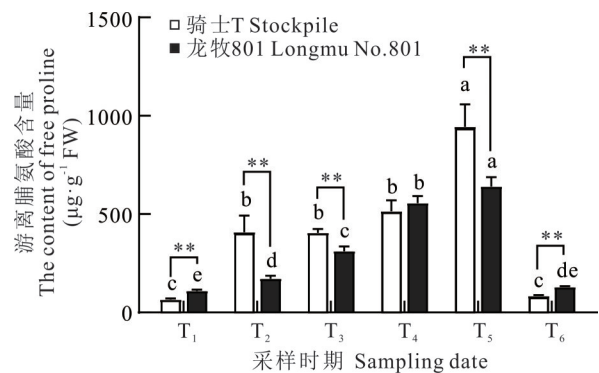


图 4 越冬期内不同苜蓿品种根颈内游离脯氨酸含量

Fig. 4 The content of free proline in root collar of different alfalfa varieties during overwintering stage

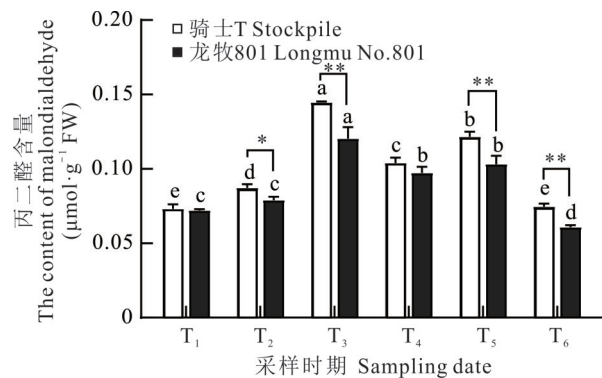


图 5 越冬期内不同苜蓿品种根颈丙二醛含量

Fig. 5 The malondialdehyde content in root collar of different alfalfa varieties during overwintering stage

POD 活性仅在  $T_3$  时期大幅升高,较初期提升 1.2 倍,显著高于同期骑士 T ( $P < 0.05$ ),其余时期较初期上升幅度较小或降低。这表明,龙牧 801 在冬季受胁迫较小,但在强降温影响下胁迫加剧,POD 活性可以迅速升高,以更迅速地清除过量产生的过氧化物。

### 3 讨论

#### 3.1 低温盐碱复合胁迫对苜蓿根颈含水量的影响

低温胁迫可以使植物细胞内水分结冰,破坏细胞膜结构,导致植物细胞失水,组织含水量降低<sup>[20]</sup>;盐碱胁迫下,环境中盐离子含量较高,外界渗透势高于细胞渗透势,引起细胞渗透失水<sup>[21]</sup>;复合胁迫下影响将进一步加剧<sup>[22]</sup>。本研究中,在越冬期的低温与盐碱复合胁迫下,苜蓿根颈 TWC 逐渐降低;温度回升后,冻融胁迫根颈细胞失水速率加快。在整个越冬过程中越冬率更高的龙牧 801 较骑士 T 根颈 TWC 下降幅度更小、速率更慢。这表明,抗寒性更强的苜蓿品种在冬季的复合胁迫下能更好地保持根颈细胞水分,维持细胞活性,而冬季温度回升时复合胁迫引起苜蓿根颈水分的迅速散失可能是影响苜蓿越冬的关键因素之一。徐洪雨等<sup>[23]</sup>对低温和干旱复合胁迫下苜蓿根颈含水量的研究结果也表明,复合胁迫下高秋眠级苜蓿品种根颈组织细胞失水速率过快,引起细胞膜不可逆损伤是导致抗寒性下降的重要原因,本研究结果与其相似。

#### 3.2 低温盐碱复合胁迫对苜蓿根颈内渗透调节物质的影响

胁迫下植物细胞内的渗透调节机制激活,通过积累 Pro、SS、SP 等渗透调节物质以增加细胞液渗透势,维持细胞膨压,从而降低细胞冰点、减少水分散失,减弱低温和盐碱胁迫对细胞的损害<sup>[24]</sup>。申晓慧等<sup>[25]</sup>与李倩等<sup>[26]</sup>研究表明,低温胁迫下苜蓿根颈内 SS、SP、Pro 含量升高,以增强自身抗寒性。李红等<sup>[18]</sup>对苏打盐碱与低温复合胁迫下苜蓿幼苗生理响应的研究结果也表明,在复合胁迫下幼苗 SS、SP、Pro 含量上升幅度更大。本研究中,在冬季的复合胁迫下,两个苜蓿品种根颈内 SS、SP 和 Pro 含量均呈现出随胁迫时间的延长逐渐升高的趋势,并在恢复生长后降低,这意味着在冬季的复合胁迫下,苜蓿通过积累根颈内渗透调节物质含量以维持细胞活性,增强自身抗寒性,这与李红等<sup>[18]</sup>、申晓慧等<sup>[25]</sup>和李倩等<sup>[26]</sup>的研究结果一致。在越冬期内,龙牧 801 根颈内 SS 积累量高于骑士 T,这表明抗寒性更强的苜蓿品种根颈内能积累更多的 SS,赵金梅等<sup>[27]</sup>和 Liu 等<sup>[28]</sup>的研究结果也表明,低温胁迫下高抗寒性的苜蓿品种可以保持更高的 SS 含量。两个苜蓿品种间根颈内 SP 含量差距较小,且与 SS 和 Pro 含量相比增幅较小,可能由于长期盐碱胁迫下,苜蓿根颈内 SP 已经存在初步积累,含量接近峰值,因此低温胁迫下升高空间较小,巩泽<sup>[29]</sup>对低温盐碱复合胁迫下黑麦草(*Secale cereale* CV. WinterGrazer-70)幼苗生理特性的研究也表明,复合胁迫下黑麦草幼苗叶片 SP 含量较单一盐碱胁迫时升高不明显甚至低于单一盐碱胁迫,本研究结果与其一致。复合胁迫下,骑士 T 根颈内游离 Pro 含量高于龙牧 801,表明 Pro 含量的高低并非龙牧 801 与骑士 T 之间存在抗寒性差异的关键因素,外国研究者 Bertrand 等<sup>[30]</sup>与 Wanner 等<sup>[31]</sup>也曾指出低温胁迫下植物体内 Pro 含量不是影响植物抗寒性的关键因素。

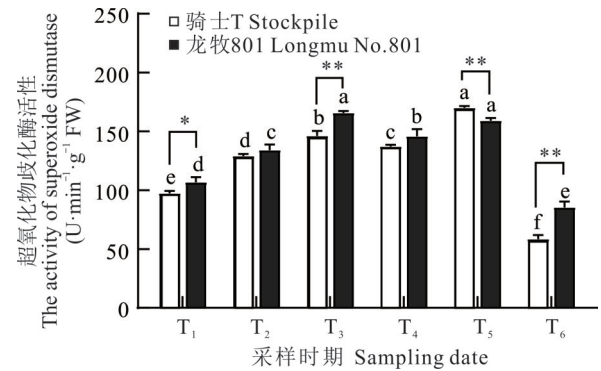


图 6 越冬期内不同苜蓿品种根颈超氧化物歧化酶活性

Fig. 6 The superoxide dismutase activity in root collar of different alfalfa varieties during overwintering stage

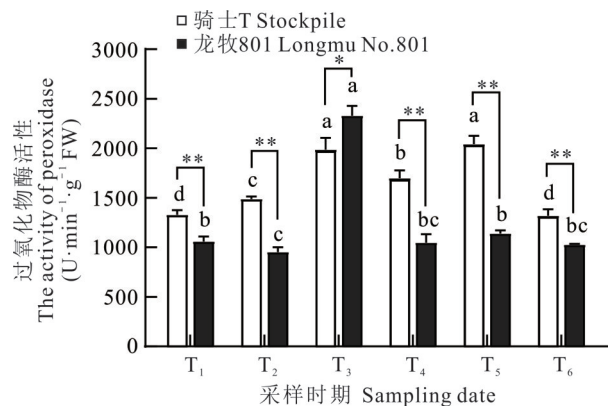


图 7 越冬期内不同苜蓿品种根颈过氧化物酶活性

Fig. 7 The peroxidase activity in root collar of different alfalfa varieties during overwintering stage

### 3.3 低温盐碱复合胁迫对苜蓿根颈细胞抗氧化酶系统的影响

逆境胁迫下,植物代谢中产生的活性氧过量积累,迫使细胞膜氧化程度加深,引起细胞内MDA含量升高<sup>[32]</sup>,抗氧化调节酶活性增强,其中SOD可以催化超氧阴离子发生歧化反应生成H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,生成的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>再经POD催化分解生成H<sub>2</sub>O和O<sub>2</sub>,从而维持细胞内活性氧代谢的平衡<sup>[33-34]</sup>。王晓龙等<sup>[35]</sup>与赵一航等<sup>[36]</sup>对冬季苜蓿根颈生理响应的研究表明,在低温胁迫下苜蓿根颈内MDA含量和POD、SOD活性升高,抗寒性更强的苜蓿品种MDA含量更低、POD和SOD活性更强。Liu等<sup>[17]</sup>和李艳芳等<sup>[37]</sup>对低温盐碱复合胁迫下苜蓿幼苗生理响应研究的结果也表明,复合胁迫下MDA含量和POD、SOD活性变化趋势与低温胁迫时相同。本研究中,冬季低温盐碱复合胁迫引起苜蓿根颈内MDA含量和POD、SOD活性升高,三者变化趋势高度重合,越冬率更高的龙牧801根颈内MDA含量更低,SOD活性更强,这与前人研究结果一致<sup>[35-37]</sup>。不同的是本研究中越冬率更高的龙牧801根颈内POD活性仅在强低温胁迫时期活性较强,张玉霞等<sup>[38]</sup>的研究中,北极熊和公农1号两个高抗寒性苜蓿品种POD活性也表现出在弱低温胁迫下变化较小,但在强低温胁迫下迅速升高的趋势,本研究结果与其相似。

在冬季低温和盐碱的复合胁迫下,苜蓿的生理响应是复杂的,本研究中对苜蓿根颈组织含水量、渗透调节物质含量、丙二醛含量和抗氧化酶活性综合分析,可以发现抗氧化酶系统和渗透调节同样作为苜蓿逆境下的重要抗性调节机制,其变化趋势具有较大差异。在越冬期内苜蓿根颈内MDA含量和POD、SOD酶活性整体随胁迫时间延长呈增加趋势,但受胁迫强度的变化上下浮动;而根颈内SS、SP、Pro含量逐渐升高、浮动较小。因此本研究提出猜测:苜蓿根颈细胞内抗氧化酶活性变化可能是对强低温胁迫的一种瞬时应激表现,而渗透调节物质的积累则是其应对低温胁迫环境的长期适应。

## 4 结论

大庆地区冬季苏打盐碱与低温复合胁迫下,随胁迫时间延长,苜蓿根颈内Pro、SS、SP积累量逐渐升高,SOD、POD酶活性和MDA含量呈升高—降低—升高—降低的双峰趋势,根颈TWC逐渐降低,各项生理指标在恢复生长后降低至正常值。与骑士T相比,越冬率更高的龙牧801能在根颈内积累更多的SS,以维持细胞水分,并在初期寒潮影响时保持更强的SOD和POD活性,以降低细胞膜过氧化程度,从而表现出更高的越冬率。

## 参考文献 References:

- [1] Zhou C J, Wu Y K, Yu J D, *et al.* Current situation and technical requirements of soybean production in saline-alkali areas in western Heilongjiang Province. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2023, 2(10): 72–77.  
周长军, 吴耀坤, 于吉东, 等. 黑龙江省西部盐碱核心区大豆生产现状与技术需求. *黑龙江农业科学*, 2023, 2(10): 72–77.
- [2] Cui W L. Soil salinization in Daqing area based on GIS technology feature analysis. Harbin: Heilongjiang University, 2024.  
崔文龙. 基于GIS技术的大庆地区土壤盐渍化特征分析. 哈尔滨: 黑龙江大学, 2024.
- [3] Wang D, Li D, Sun P P, *et al.* Extension increment—current situation and countermeasure of grass improvement in saline-alkali land. *Agriculture and Technology*, 2024, 44(17): 1–4.  
王笛, 李达, 孙萍萍, 等. 拓面增量—盐碱地种草改良现状及对策. *农业与技术*, 2024, 44(17): 1–4.
- [4] Li Y, Ma F L, Han L, *et al.* Productivity and adaptability of ‘WL’ alfalfa varieties with different fall dormancy in the extremely arid region of Southern Xinjiang. *Acta Prataculturae Sinica*, 2024, 33(3): 139–149.  
李妍, 马富龙, 韩路, 等. 美国‘WL’系列不同休眠级苜蓿品种在南疆的生产性能与适应性评价. *草业学报*, 2024, 33(3): 139–149.
- [5] Wang Q, Wu J, Di G, *et al.* Identification of cold tolerance transcriptional regulatory genes in seedlings of *Medicago sativa* L. and *Medicago falcata* L. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(19): 10345.
- [6] Huo Z H, Song L L, Chen Y, *et al.* Research progress on genetic breeding of alfalfa and cold resistant resources. *Prataculture & Animal Husbandry*, 2015, 36(1): 8–11.  
霍智慧, 宋丽莉, 陈月, 等. 紫花苜蓿耐寒育种研究进展. *草业与畜牧*, 2015, 36(1): 8–11.
- [7] Li Y F, Bao G Z, Liu X T, *et al.* Physiological response of *Medicago sativa* under freezing-thawing and salinity-alkalinity stress. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2016, 44(7): 278–281.  
李艳芳, 包国章, 刘晓婷, 等. 冻融及碱性盐胁迫下紫花苜蓿幼苗的生理响应. *江苏农业科学*, 2016, 44(7): 278–281.

- [8] Sun Q Z, Gui R, Han J G. Research on winter injury and prevent technique of alfalfa (*Medicago sativa* L. cv. 'Aohan') in Chifeng Region. *Acta Agrestia Sinica*, 2001, 9(1): 50–57.  
孙启忠, 桂荣, 韩建国. 赤峰地区敖汉苜蓿冻害及其防御技术. *草地学报*, 2001, 9(1): 50–57.
- [9] Liu X P, Li G L, Cui G W. Research progress of alfalfa cold resistance. *Feed Review*, 2006, 18(12): 11–13.  
刘香萍, 李国良, 崔国文. 紫花苜蓿抗寒性研究进展. *饲料博览*, 2006, 18(12): 11–13.
- [10] Han Q F, Wu X W, Jia Z K, *et al.* Analysis on dynamic variety of crown characteristics of different fall dormancy *Medicago sativa* cultivars. *Acta Prataculturae Sinica*, 2008, 17(4): 85–91.  
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. *草业学报*, 2008, 17(4): 85–91.
- [11] Zhu K, Fang Z J, Li S, *et al.* Effects of double stress of freezing thawing and saline alkali on the absorption and transportation of mineral ions in the vegetative organs of alfalfa seedlings. *Acta Agrestia Sinica*, 2023, 31(6): 1818–1825.  
朱琨, 方志坚, 李帅, 等. 冻融及盐碱双重胁迫对苜蓿幼苗营养器官矿物质离子吸收及运输的影响. *草地学报*, 2023, 31(6): 1818–1825.
- [12] Zhu C C, Shi K, He Q K, *et al.* Response of 'Zhongmu No. 1' alfalfa seedlings to mixed saline-alkali stress. *Chinese Journal of Grassland*, 2024, 46(8): 1–9.  
朱晨晨, 史昆, 何沁坤, 等. 中苜一号紫花苜蓿幼苗对混合盐碱胁迫的响应. *中国草地学报*, 2024, 46(8): 1–9.
- [13] Wang M, Li L, Jia R, *et al.* Evaluation of physiological characteristics and cold resistance of 10 alfalfa varieties under low temperature stress. *Acta Prataculturae Sinica*, 2024, 33(6): 76–88.  
王敏, 李莉, 贾蓉, 等. 10种紫花苜蓿在低温胁迫下的生理特性及耐寒性评价. *草业学报*, 2024, 33(6): 76–88.
- [14] Su L H, Zhang F F, Wang X Z, *et al.* Effects of natural snow cover on winter survival rate and cold resistance of five different fall dormancy alfalfa. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2021, 58(11): 2122–2132.  
苏力合, 张凡凡, 王旭哲, 等. 自然覆雪对5个不同秋眠级紫花苜蓿越冬率及抗寒性的影响. *新疆农业科学*, 2021, 58(11): 2122–2132.
- [15] Yue Y F, Wang X Z, Miao F, *et al.* Effects of snow cover thickness on cold resistance and winter survival rates in alfalfa cultivars with different fall dormancies. *Acta Prataculturae Sinica*, 2016, 25(8): 98–106.  
岳亚飞, 王旭哲, 苗芳, 等. 覆雪厚度对不同秋眠级苜蓿抗寒性及越冬率的影响. *草业学报*, 2016, 25(8): 98–106.
- [16] Wang X, Kang W, Wu F, *et al.* Comparative transcriptome analysis reveals new insight of alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars in response to abrupt freezing stress. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13(3): 798118.
- [17] Liu L, Si L, Zhang L, *et al.* Metabolomics and transcriptomics analysis revealed the response mechanism of alfalfa to combined cold and saline-alkali stress. *Plant Journal*, 2024, 119(4): 1900–1919.
- [18] Li H, Li B, Fang Z J, *et al.* Physiological response of alfalfa seedlings to freeze-thaw or freeze-thaw versus soda saline-alkali stress. *Acta Agrestia Sinica*, 2021, 29(7): 1469–1476.  
李红, 李波, 方志坚, 等. 冻融和冻融+苏打盐碱复合胁迫下苜蓿幼苗的生理响应. *草地学报*, 2021, 29(7): 1469–1476.
- [19] Shi S D, Yuan S Y, Qing Y, *et al.* Experimental supervision of plant physiology. Beijing: China Forestry Publishing House, 2011.  
史树德, 袁孙亚, 卿袁, 等. 植物生理学实验指导. 北京: 中国林业出版社, 2011.
- [20] Panjtandoust M, Wolyn D J. Freezing tolerance attributes during spring deacclimation for three asparagus cultivars with varying adaptation to Southern Ontario. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2016, 141(1): 22–33.
- [21] Khalifa G S, Abdelrassoul M, Hegazi A M, *et al.* Attenuation of negative effects of saline stress in two lettuce cultivars by salicylic acid and glycine betaine. *Gesunde Pflanzen*, 2016, 68(4): 177–189.
- [22] Zhang M Y. Physiological effects of alkaline salt stress and cutting disturbance on *Secale cereale* L. seedlings in freeze-thaw environment. Changchun: Jilin University, 2020.  
张梦瑜. 冻融环境下碱性盐胁迫及刈割干扰对黑麦的生理影响. 长春: 吉林大学, 2020.
- [23] Xu H Y, Zhen L L, Li Y Y, *et al.* Effect of freeze-drying environment on freezing tolerance of alfalfa crowns. *Acta Agrestia Sinica*, 2021, 29(4): 724–733.  
徐洪雨, 甄莉丽, 李钰莹, 等. 低温干旱环境对紫花苜蓿根颈耐寒性的影响. *草地学报*, 2021, 29(4): 724–733.
- [24] Quan W, Xue W T, Zhao T Y, *et al.* A review on the response mechanism of plant to low temperature stress. *Journal of China Agricultural University*, 2023, 28(2): 14–22.  
权威, 薛文通, 赵天瑶, 等. 植物对低温胁迫的响应机制研究进展. *中国农业大学学报*, 2023, 28(2): 14–22.
- [25] Shen X H, Jiang C, Feng P, *et al.* Comparison of MDA content and antioxidant enzymes activity of several alfalfa roots in cold

- region. *Crops*, 2015, 18(4): 88–91.
- 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. *作物杂志*, 2015, 18(4): 88–91.
- [26] Li Q, Li C H, Sun Q Z, *et al.* Study on cold resistance of three alfalfas successfully overwintered in Menyuan County. *Acta Agrestia Sinica*, 2021, 29(3): 631–634.
- 李倩, 李长慧, 孙启忠, 等. 门源县越冬成功的 3 种紫花苜蓿抗寒性研究. *草地学报*, 2021, 29(3): 631–634.
- [27] Zhao J M, Yin G M, Sun J J, *et al.* The relationship between the transformation and transport of non-structural carbohydrates and cold resistance in *Medicago sativa* during cold hardening. *Acta Prataculturae Sinica*, 2023, 32(12): 181–188.
- 赵金梅, 殷国梅, 孙娟娟, 等. 抗寒锻炼中紫花苜蓿非结构性碳水化合物转化转运与抗寒性关系. *草业学报*, 2023, 32(12): 181–188.
- [28] Liu Z Y, Baoyin T, Li X L, *et al.* How fall dormancy benefits alfalfa winter-survival? Physiologic and transcriptomic analyses of dormancy process. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 205.
- [29] Gong Z. Physiological characteristics of rye seedlings under freezing-thawing and alkaline salt stress. Changchun: Jilin University, 2018.
- 巩泽. 冻融及碱性盐胁迫下黑麦草幼苗的生理响应特征. 长春: 吉林大学, 2018.
- [30] Bertrand A, Paquin R. Influence of hardening temperature on frost tolerance of alfalfa and its sugar, starch and proline contents. *Canadian Journal of Plant Science*, 1991, 71(3): 737–747.
- [31] Wanner L A, Junttila O. Cold-induced freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 1999, 120(2): 391–400.
- [32] Xing K, Li T J, Liu Y F, *et al.* Antifungal and eliciting properties of chitosan against *Ceratocystis fimbriata* in sweet potato. *Food Chemistry*, 2018, 268(1): 188–195.
- [33] Bela K, Bangash S A K, Riyazuddin, *et al.* Plant glutathione peroxidases: Antioxidant enzymes in plant stress responses and tolerance. Berlin: Springer International Publishing, 2017.
- [34] Hashempour A, Ghasemnezhad M, Ghazvini R F, *et al.* Olive (*Olea europaea* L.) freezing tolerance related to antioxidant enzymes activity during cold acclimation and non acclimation. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2014, 36(1): 3231–3249.
- [35] Wang X L, Yang Z, Lai Y C, *et al.* Study on root physiological metabolism response of different alfalfa in winter. *China Feed*, 2023, 34(23): 126–131.
- 王晓龙, 杨翌, 来永才, 等. 不同苜蓿越冬期根系生理代谢响应研究. *中国饲料*, 2023, 34(23): 126–131.
- [36] Zhao Y H, Meng L D, Zhang X M, *et al.* Evaluation of physiological response and cold resistance of four alfalfa cultivars to low temperature stress. *Pratacultural Science*, 2021, 38(4): 683–692.
- 赵一航, 孟令东, 张晓萌, 等. 4 个紫花苜蓿品种对低温胁迫的生理响应及抗寒性评价. *草业科学*, 2021, 38(4): 683–692.
- [37] Li Y F. Physiological response characteristics of *Medicago sativa* under freezing-thawing and salinity-alkalinity compound stress. Changchun: Jilin University, 2017.
- 李艳芳. 紫花苜蓿幼苗对冻融及盐碱复合胁迫的生理响应特征. 长春: 吉林大学, 2017.
- [38] Zhang Y X, Cong B M, Wang X G, *et al.* Correlation analysis of cold resistance and antioxidant enzyme activities in alfalfa roots. *Acta Agrestia Sinica*, 2021, 29(2): 244–249.
- 张玉霞, 丛百明, 王显国, 等. 苜蓿抗寒性与根系抗氧化酶活性相关性分析. *草地学报*, 2021, 29(2): 244–249.