DOI: 10.3969/j.issn.1674-5663.2015.03.003

低温胁迫对紫苜蓿‘WL525’生理特性的影响

陈梓健[1]，刘凤民[2]，张伟丽[1*]

（1. 仲恺农业工程学院 生命科学学院，广东 广州 510225；
2. 仲恺农业工程学院 教学科研基地，广东 广州 510225）

摘要： 以紫苜蓿（*Medicago sativa* Linn.）‘WL525’为试验材料，通过低温处理4 d，就低温胁迫对紫苜蓿中丙二醛（Malondialdehyde，MDA）浓度、相对电导率、过氧化物酶（Peroxidase，POD）活性和可溶性糖质量浓度变化的影响进行了研究. 结果表明：随着低温胁迫时间的延长，紫苜蓿‘WL525’叶片细胞中的MDA浓度总体呈现升高的趋势，POD酶活性呈现出先增加后降低的趋势，可溶性糖质量浓度和相对电导率均呈现出升高的趋势. 4个生理指标均与紫苜蓿‘WL525’的抗寒性有密切联系，紫苜蓿‘WL525’通过增加POD酶活性和可溶性糖的质量浓度来调节低温对其造成的伤害.

关键词： 紫苜蓿（*Medicago sativa* Linn.）；低温胁迫；抗寒性；生理特性

中图分类号： S541　　**文献标志码：** A　　**文章编号：** 1674-5663(2015)03-0009-03

Effect of low temperature stress on physiological characteristics of *Medicago sativa* Linn. ‘WL525’

CHEN Zijian[1], LIU Fengmin[2], ZHANG Weili[1*]

(1. College of Life Sciences, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China;
2. Teaching and Research Base, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

Abstract: *Medicago sativa* Linn. WL525 was treated by low temperature stress for 4 d and the content of MDA and soluble sugar, POD activity, and relative conductivity were measured. The results showed that under low temperature stress, the MDA content in leaves cells of *Medicago sativa* Linn. WL525 showed increasing trend; POD activity increased first and then decreased; the soluble sugar content and the relative conductivity showed increasing trend. These four kind of physiological indexes related closely to the cold hardiness of *Medicago sativa* Linn. WL525. The increased content of soluble sugar and POD activity adjust the WL525 plant to the damage caused by temperature stress.

Key words: *Medicago sativa* Linn.; low temperature stress; cold resistance; physiological characteristics

紫苜蓿（*Medicago sativa* Linn.）也称紫花苜蓿，属多年生宿根性草本植物，是苜蓿属（*Medicago*）内栽培最广泛、经济价值最高的优良牧草，其营养价值高，适口性好，各种畜禽均喜食，被誉为“牧草之王”. 其在世界温带地区广泛栽培，在我国主要分布于西北、华北和东北等地区[1]. 地处亚热带的广东每年要从美国进口大量苜蓿干草以满足本地畜牧业发展的需求. 而引入适合广东地区种植的苜蓿是广东牧草产业调整的重要途径. 我国原有的一些紫苜蓿品种具有抗热性差、产量低和秋眠性强等不足，只适合在长江以北地区栽培，在南方则降低了推广利用价值，使优质牧草得不到大面积推广[2-3]. 随着种植地区湿润度增加和纬度的降低，适宜种植的苜蓿品种秋眠级增高（秋眠性减弱）. 因此，选择秋眠级数高（非秋眠或弱秋眠）及抗热性的苜蓿品种是紫苜蓿南方引种的前提. 刘艾等[4]将美国高秋眠级数的紫苜蓿‘WL525’在广州引种成功，发现其耐热性较好，在夏季高温条件下生长良好. 但紫苜蓿‘WL525’在广东低温时的抗寒表现及其机理罕见报道. 作者对低温胁迫下紫苜蓿‘WL525’叶片细胞中丙二醛（Malondialdehyde，MDA）浓度、相对电导率、过氧化物酶

收稿日期：2015-03-17

基金项目：广东省研究生创新计划(2014JGXM-MS31)资助项目.

作者简介：陈梓健(1991-)，男，广东广州人，在读硕士研究生. * 通信作者：E-mail: zhangweili7218@163.com

(Peroxidase，POD) 活性及可溶性糖质量浓度与抗寒性的关系进行研究，以期为我国南方苜蓿的生产和管理提供参考.

1 材料与方法

1.1 试验材料

紫苜蓿‘WL525’，秋眠性级数8.0，购自北京金农科种子科技有限公司.

1.2 低温胁迫处理方法

将紫苜蓿‘WL525’种子用55 ℃热水浸泡20 min，于25 ℃下催芽，当种子刚露出白色的根点时，点播于直径15 cm盛有基质(m(泥炭土):m(珍珠岩)=3:1)的塑料盆中，每盆10~15粒，置温室大棚内生长，待种子出土后，去除黄化苗，选留生长势一致的苗15株，苜蓿生长的光照条件为自然光，温度为25~30 ℃. 待植株长至8周时转移至5 ℃的人工气候箱进行低温处理，分别于第1、2、3、4天11: 00取植物叶片(第3位叶)进行各项指标测定，并且以未进行低温处理的叶片作为对照，每组3个重复.

1.3 生理指标的测定

MDA浓度参照刘琳[5]的方法进行测定. 相对电导率采用周碧燕等[6]的方法测定. POD酶活性测定采用愈创木酚法[6]进行测定. 可溶性糖质量浓度采用蒽酮比色法[6]测定.

1.4 数据处理

试验数据均在Excel 2003软件中进行分析处理.

2 结果与分析

2.1 低温胁迫对紫苜蓿‘WL525’MDA浓度的影响

MDA是植物膜过氧化的产物，在低温胁迫下会大量积累，MDA的积累会使细胞纤维素分子间的桥建松弛，对细胞膜造成一定程度的伤害. 因此，MDA浓度的高低，可以作为植物抗寒性指标之一[7].

随着低温胁迫时间的延长，MDA浓度呈升高的趋势，在低温胁迫的第3天达到最大值，MDA浓度为2.84 μmol/L，增加率为88.34% (图1). 由此可见，低温胁迫对细胞膜造成了一定程度上的伤害.

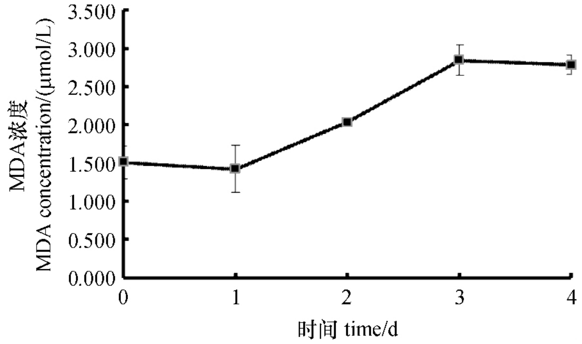

图1 低温胁迫对紫苜蓿‘WL525’叶片MDA浓度的影响

Fig. 1 Effect of lowtemperature on MDA concentration of *Medicago sativa* Linn. WL525 leaves

2.2 低温胁迫对紫苜蓿‘WL525’相对电导率的影响

电导率可以反映出在低温胁迫下生物膜透性的变化，是一种抗性指标. 在低温胁迫下，细胞原生质膜的结构和功能都会受到伤害，使细胞内的电解质外渗，导致电导率增加[8].

随着低温胁迫时间的延长，相对电导率呈升高的趋势，在低温胁迫的第4天达到最大值，相对电导率为86.54%，增加率为3.49% (图2). 由此可见，低温胁迫对细胞膜造成了一定程度上的伤害.

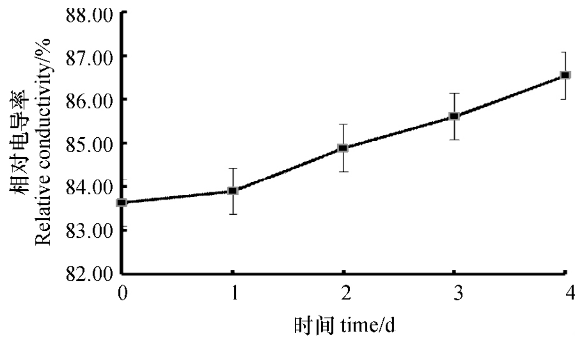

图2 低温胁迫对紫苜蓿‘WL525’叶片相对电导率的影响

Fig. 2 Effect of lowtemperature on relative conductivity of *Medicago sativa* Linn. WL525 leaves

2.3 低温胁迫对紫苜蓿‘WL525’POD酶活性的影响

POD是一种能清除细胞中自由基的酶. 在低温胁迫下，植物体内的活性氧会大量积累，对细胞膜造成一定的伤害. 活性氧的产生会使POD酶活性增加，保护细胞膜不受伤. 众多研究表明，POD酶活性的增加和植物的抗寒性有一定的正相关关系[8].

随着低温胁迫时间的延长，POD酶活性呈先上升后下降的趋势，在低温胁迫第3天达到最大值，POD酶活性为4.68 U/L，增加率为126.21%. 但在低温胁迫的第4天急速下降，POD酶活性为2.29 U/L，增加率为10.81% (图3)，说明紫苜

蓿‘WL525’通过提高POD酶活性来调节低温对植物造成的伤害，但由于调节机制的局限性，超过一定程度POD酶活性又降低. 由此可见，POD酶活性与紫苜蓿‘WL525’低温胁迫的调节机制有密切关系.

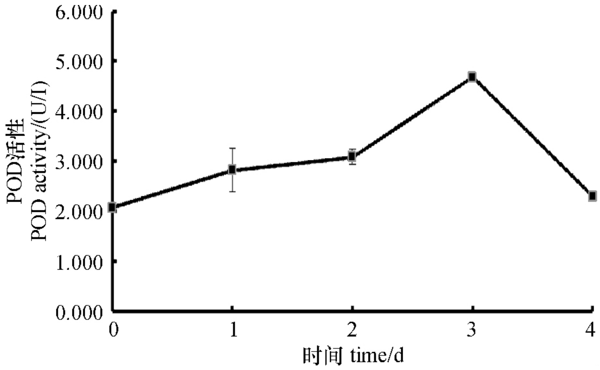

图3　低温胁迫对紫苜蓿‘WL525’POD酶活性的影响

Fig. 3　Effect of lowtemperature on POD activity of *Medicago sativa* Linn.　WL525 leaves

2.4　低温胁迫对紫苜蓿‘WL525’可溶性糖质量浓度的影响

可溶性糖能保护原生质胶体不致遇冷凝固而冻伤. 在低温胁迫下，植物体内开始积累碳水化合物，从而提高了细胞液的浓度，缓和了原生质过度脱水[10].

随着低温胁迫时间的延长，可溶性糖质量浓度呈升高的趋势，在低温胁迫的第4天达到最大值，可溶性糖质量浓度为187.84 μg/g，增加率为22.82%（图4）. 说明紫苜蓿‘WL525’通过提高可溶性糖质量浓度来调节低温对植物造成的伤害. 由此可见，可溶性糖质量浓度与紫苜蓿‘WL525’低温胁迫的调节机制有关系.

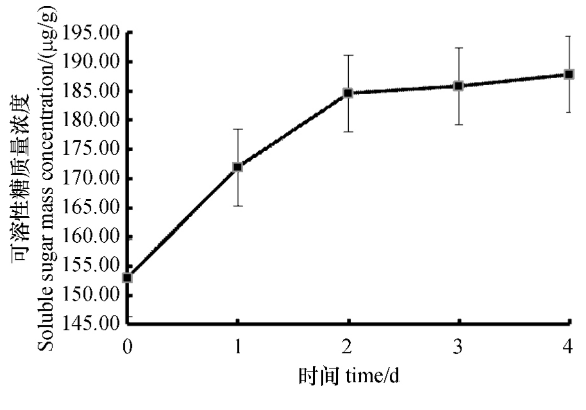

图4　低温胁迫对紫苜蓿‘WL525’叶片可溶性糖质量浓度的影响

Fig. 4　Effect of lowtemperature on Soluble sugar mass concentration of *Medicago sativa* Linn.　WL525 leaves

3　讨论

植物的抗寒能力要用多个因素分析才能比较全面地体现出植物真实的抗寒能力. 本试验通过测定紫苜蓿‘WL525’叶片的MDA浓度、相对电导率、POD酶活性和可溶性糖质量浓度等4种生理指标. 结果发现，4种生理指标都与紫苜蓿‘WL525’的低温调节机制密切相关. 在低温胁迫下，紫苜蓿‘WL525’的MDA浓度和相对电导率都呈上升的趋势，这与陶雅等[11]的试验结果相似. 说明低温胁迫对植物的细胞膜造成一定的损害. 冯昌军等[12]发现，POD酶活性在低温胁迫下呈现先上升后下降的趋势，本试验得到与其相似的结果. POD酶活性在低温胁迫初期上升说明紫苜蓿‘WL525’通过提高POD酶活性来调节低温对植物造成的伤害. 在低温胁迫的第4天，POD酶活性下降可能是由于低温胁迫下细胞受到的伤害超过了低温调节机制的能力，导致POD合成受阻，所以POD酶活性下降. 可溶性糖质量浓度在低温胁迫初期呈上升趋势，说明紫苜蓿‘WL525’通过提高可溶性糖质量浓度来调节低温对植物造成的伤害. 在低温胁迫的第2天以后可溶性糖质量浓度趋于稳定，可能是由于低温调节机制的局限性，导致碳水化合物的合成受阻，只能维持在一定水平上，所以可溶性糖质量浓度趋于稳定.

综合分析4个指标的结果可以得出，MDA浓度、相对电导率、POD酶活性和可溶性糖质量浓度均与紫苜蓿‘WL525’的抗寒性有密切联系，紫苜蓿‘WL525’可以通过增加POD酶活性和可溶性糖的质量浓度来调节低温对植物造成的伤害.

参考文献:

[1] 耿华珠. 中国苜蓿[M]. 北京：中国农业出版社，1995.
[2] 张少华，张敦新，张银会，等. 论陇东紫花苜蓿的产业化[J]. 草业科学，2000，17(2)：19－22.
[3] 阎旭东，翟玉柱，朱志明，等. 八个苜蓿品种的耐盐性分析[A]//刘小京，刘孟雨. 盐生植物利用与区域农业可持续发展[M]. 北京：气象出版社，2002：275－277.
[4] 刘艾，张伟丽. 紫花苜蓿WL525在广州地区的引种试验[J]. 广东农业科学，2010，13(8)：36－38.
[5] 刘琳. 四川野生假俭草的抗寒性研究[D]. 雅安：四川农业大学，2004.
[6] 周碧燕，郭振飞. ABA及其合成抑制剂对柱花草抗冷性及抗氧化酶活性的影响[J]. 草业学报，2005，14(6)：94－99.
[7] VELIKOVA V，YORDANOV I，EDREVA A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain treated bean plants protective role of exogenous polyamines. Plant Sci，2000，15(1)：59－66.

（下转第30页）

体积分数0.3%和体积分数0.7%，抽提物浓度分别为体积分数1.6%和体积分数2.2%，模拟物为去离子水时的总迁移量分别为3和5 mg/dm^2，模拟物为体积分数3%的乙酸时的总迁移量分别为4和7 mg/dm^2，模拟物为体积分数10%的乙醇时的总迁移量分别为4和8 mg/dm^2，模拟物为体积分数95%的乙醇时的总迁移量分别为8和13 mg/dm^2.

当结构控制剂用量相同时，选用乙烯基羟基硅油作为结构控制剂所制备的硅橡胶的力学性能和安全卫生性能更优. 因此，合理选用结构控制剂种类及确定其用量可有效改善硅橡胶的力学性能和安全卫生性能. 作为新型结构控制剂，乙烯基羟基硅油可应用于硅橡胶体系，提高硅橡胶的力学性能和安全卫生性能.

参考文献:

[1] 王伟良. 热硫化硅橡胶的合成和加工(一) [J]. 有机硅材料，2011，25(3): 213-214.

[2] 谢尊虎，曾凡伟，肖建斌. 硅橡胶性能及其研究进展 [J]. 特种橡胶制品，2011，32(2): 69-72.

[3] 江艳，章若红，徐德佳. 食品接触用硅橡胶制品标准体系的研究 [J]. 中国橡胶，2012，28(2): 9-13.

[4] 程少辉. 食品级高温硫化硅橡胶的制备及性能研究 [D]. 广州: 仲恺农业工程学院，2013.

[5] 王伟良. 热硫化硅橡胶的合成和加工(六) [J]. 有机硅材料，2012，26(2): 127-128.

[6] 广东省计量科学研究院，上海六菱仪器厂. GB/T 531.1-2008 硫化橡胶或热塑性橡胶压入硬度试验方法 [S]. 北京: 中国标准出版社，2008.

[7] 中橡集团沈阳橡胶研究设计院，北京橡胶工业研究设计院，承德精密试验机有限公司. GB/T 528-2009 硫化橡胶或热塑性橡胶拉伸应力应变性能的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社 2009.

[8] 桦林佳通轮胎有限公司. GB/T 529-2008 硫化橡胶或热塑性橡胶撕裂强度的测定(裤形、直角形和新月形试样) [S]. 北京: 中国标准出版社，2008.

[9] 北京橡胶工业研究设计院，贵州轮胎股份有限公司. GB/T 3516-2006 橡胶溶剂抽出物的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社，2007.

[10] European Commission. Commission directive 2002/72/EC relating to plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs [J]. Official Journal, 2002, L220: 18-90.

[11] Committee European Standardization. EN1186-1-2002 Materials and articles in contact with food-stuffs-Plastic-Part 1: Guide to the selection of conditions and test methods for overall migration [S]// London: Committee Euro-pean Standardization, 2002.

[12] 孙彩亮，魏刚，严静，等. 硅油和白炭黑比表面积对硅橡胶性能的影响 [J]. 弹性体，2010，20(1): 27-29.

[13] 韩庆文，陈海平，李恩，等. 影响HTV硅橡胶撕裂强度的因素 [J]. 有机硅材料，2014，28(3): 172-175.

[14] 葛建芳. 低挥发份硅橡胶混炼胶及其制备方法 [P]. 中国专利: CN102719100A，2012-10-10.

[15] 郭建华，曾幸荣，罗权焜. 乙烯基硅油对再生热硫化硅橡胶性能的影响 [J]. 橡胶工业，2013，60(10): 604-608.

【责任编辑 林江娇】

(上接第11页)

[8] 刘惠杰，叶艺，葛玉红，等. 低温条件下木薯种茎发芽性能与生理指标相关性研究 [J]. 南方农业学报，2011，42(8): 866-869.

[9] 夏明，刘亚学，阿拉木斯，等. 苜蓿叶片中过氧化物同功酶与抗冷性的关系 [J]. 中国草地，2003，25(4): 41-45.

[10] 梁慧敏，夏阳. 碳水化合物含量和过氧化物酶活性变化与苜蓿抗寒性的关系 [J]. 甘肃农业大学学报，1995，30(4): 307-311.

[11] 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.

[12] 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，2005，22(6): 32-36.

【责任编辑 简友光】