

低温胁迫对紫花苜蓿种子萌发的影响

高茜,徐洪雨,李振松,何峰,仝宗永,李向林

(中国农业科学院北京畜牧兽医研究所,北京 100193)

摘要:以肇东苜蓿和 WL440 分别作为耐寒品种和不耐寒品种,通过 10℃低温胁迫处理,以 25℃为对照,记录两个苜蓿品种的发芽状况,并测定 7 日龄幼苗的生理生化指标,结果表明:低温胁迫下,苜蓿种子发芽率显著降低,发芽时间延长,幼苗生长缓慢,植株较弱,长期低温将导致幼苗死亡;低温胁迫还会使细胞受损,发生膜质过氧化反应、积累活性氧,而具有清除活性氧功能的保护酶系统却被低温抑制,使活性氧的产生与清除失衡,造成氧化损伤,导致细胞损伤甚至死亡。

关键词:紫花苜蓿;低温胁迫;发芽;抗氧化酶

中图分类号:Q945 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2020)04-0034-07

DOI: 10.13817/j.cnki.cyycp.2020.04.006

紫花苜蓿是世界范围内栽培面积最大、应用范围最广的豆科牧草,因具有易于栽培,多年生长,利用年限长、抗逆性好、适口性佳、蛋白质含量高,营养成分全面等优良特点,被誉为“牧草之王”^[1-3]。低温胁迫是影响植物正常生长发育的重要因素之一,冷害、冻害严重时甚至会导致植株死亡^[1-3],给生产带来严重的损失。因此,了解低温胁迫对植物萌发和生长早期的影响对紫花苜蓿栽培、生产有重要意义。

国内外已有大量关于紫花苜蓿抗寒性的研究^[6-9],这些研究表明,紫花苜蓿抗寒能力与保护酶活性密切相关^[8,10-12],超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)作为与植物抗逆相关的抗氧化关键酶,可以减缓细胞内活性氧的积累和膜脂过氧化伤害,SOD 将超氧化物自由基(O²⁻)分解为过氧化氢(H₂O₂),POD 和 CAT 共同作用,将 H₂O₂ 代谢成水分子。植物通过调节这些酶的活性,来维持活性氧的平衡,避免细胞伤害^[13]。为更好地了解紫花苜蓿

在萌发过程中对低温胁迫的适应性,测定了苜蓿种子的萌发状况和幼苗生长初期的各项生理指标,以期为首蓿的抗寒研究提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验选取的苜蓿品种为 WL440 和肇东苜蓿,其中 WL440 种子从草种公司购买,肇东苜蓿种子由黑龙江省畜牧兽医研究所提供。WL440 是美国进口苜蓿品种,休眠级为 6;肇东苜蓿是国产苜蓿,休眠级为 2。

1.2 试验处理

选取大小一致,颗粒饱满的种子,去除杂质。种子表面用 1.0% 次氯酸钠溶液消毒 5 min,蒸馏水冲洗 7~8 次,于 MS 培养基(pH 5.7)上发芽^[14],每个培养皿中均匀地放置 10 粒种子,每个苜蓿品种设置 60 个培养皿,共 120 个培养皿。两个苜蓿品种均分为两份,分别放置在 10℃(低温胁迫)和 25℃(对照)的培养箱中培养,先在黑暗中培养 3 d,然后在 12 h 的光/暗循环中生长 4 d,相对湿度为 65%。试验处理结束后将待测样品冲洗干净,测定前在液氮中保存备用。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 种子发芽指数测定 培养过程中,每隔 24 h 记录各培养皿内种子的发芽数目,试验处理结束后,将幼苗取出,冲洗干净,测定幼苗重量、长度^[15]。

发芽率(%) = 发芽种子数/试验种子粒数 ×

收稿日期:2019-12-03; **修回日期:**2019-12-19

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-34);国家重点研发计划项目(2016YFC0500608)

作者简介:高茜(1995-),女,内蒙古鄂尔多斯人,硕士研究生。

E-mail:18811456401@163.com

李向林为通讯作者。E-mail:lxl@caas.cn

100%;

$$\text{发芽指数(GI)} = \sum(G_t/D_t)$$

式中, G_t 为 t 时间的发芽数, D_t 为相应的发芽天数。

$$\text{活力指数(VI)} = \text{GI} \times S$$

式中:GI 为发芽指数, S 为一定时期内的幼苗长度 [16]。

1.3.2 生理指标测定 将液氮中保存的样品取出磨成粉状,进行生理指标测定,每个指标 3 次重复。过氧化氢(hydrogen peroxide, H_2O_2)含量使用过氧化氢测试盒(南京建成)测定;丙二醛(malonaldehyde, MDA)含量使用丙二醛试剂盒(苏州科铭)测定。

1.3.3 抗氧化酶活性测定 将液氮中保存的样品取出磨成粉状,测定各项抗氧化酶指标,每个指标 3 次重复。测定可溶性蛋白(soluble protein, SP)含量使用 BCA 法蛋白定量测试盒;测定超氧化物歧化酶活性使用总超氧化物歧化酶测试盒;测定过氧化物酶活性使用过氧化物酶盒;测定过氧化氢酶活性使用过氧化氢酶测试盒,所

有试剂盒均由南京建成生物工程研究所生产。

1.4 试验数据处理与统计分析

用 Excel 对数据进行处理及作图,用 SPSS 20.0 进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 低温对紫花苜蓿种子发芽率的影响

两个紫花苜蓿品种种子的发芽在 10°C 处理下均受到抑制,且发芽时间推迟(图 1A),与常温处理对比,两个品种的发芽时间均延后了 2 d;试验处理 7 d 后, 25°C 处理下的两个品种的发芽率均达到 95% 以上,品种之间无显著差异; 10°C 处理下的发芽率肇东苜蓿为 88.00%, WL440 为 89.67%, 品种之间无显著差异 ($P > 0.05$),均显著低于 25°C 处理下的发芽率 ($P < 0.05$);在低温处理下紫花苜蓿种子的发芽率、发芽指数和活力指数均显著低于正常温度下;同一温度下两个品种种子发芽率和发芽指数都无显著差异(图 1B、C); 25°C 处理下的种子除 WL440 的种子活力指数高

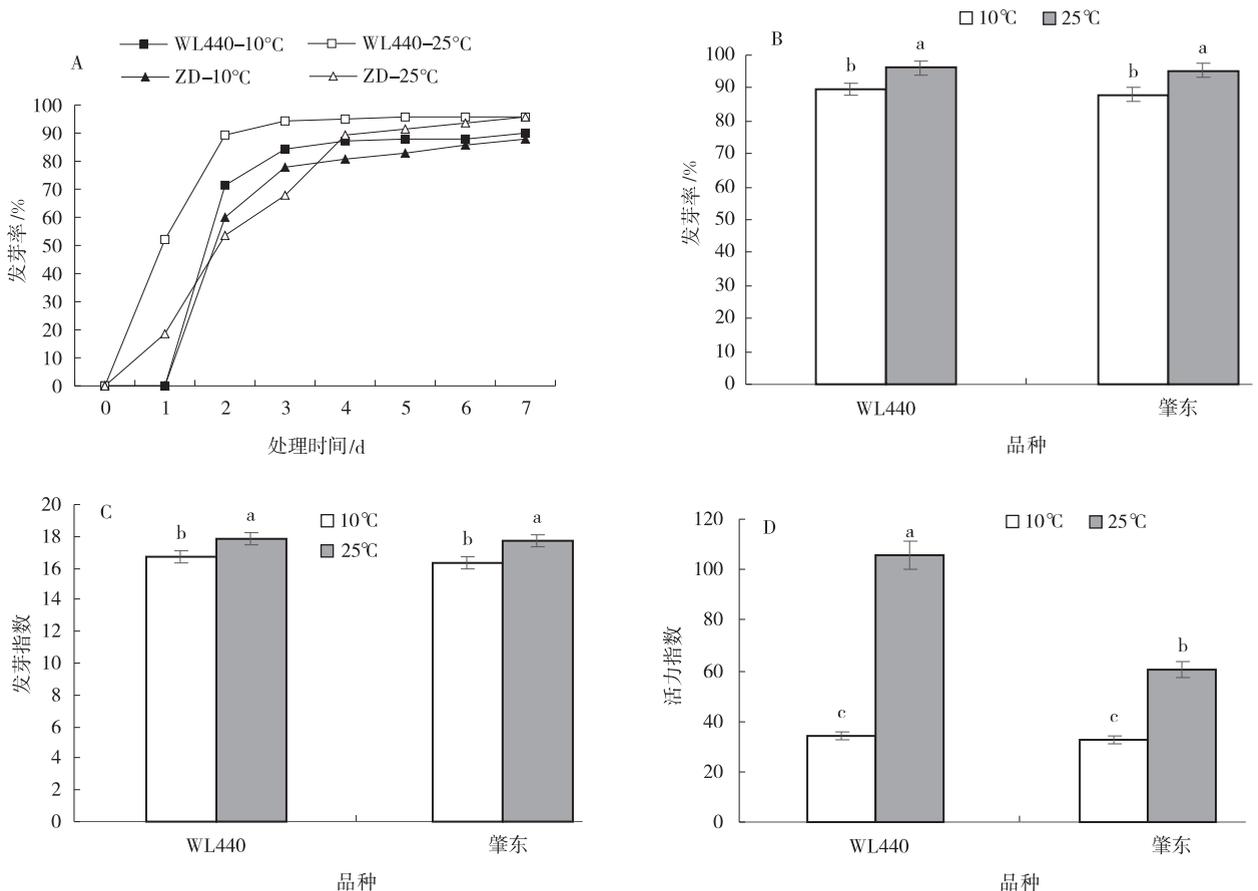


图 1 不同温度处理下 WL440 和肇东苜蓿的发芽状况

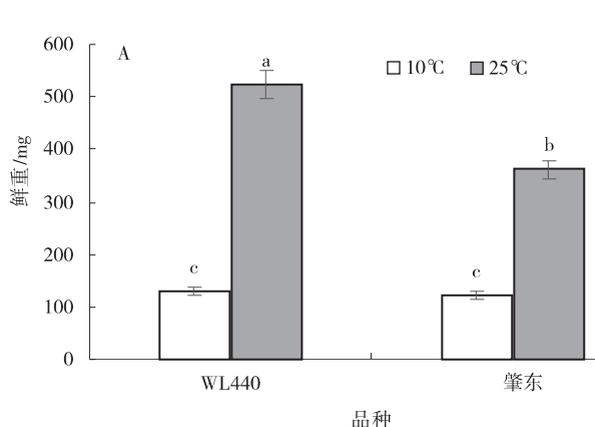
Fig. 1 Germination of WL440 and ZhaoDong under low temperatures

注:不同小写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$),下同

于肇东苜蓿,其他指标均无显著差异(图 1D);低温处理下幼苗后期生长状况较差,植株茎秆瘦弱,多数幼苗仅两片叶,幼根发育不良,侧根、根毛较少,在低温下培养至第 6 d 时,观察到幼苗全株变成紫红色,表明幼苗已经受到冻害。

2.2 低温对幼苗生物量和长度的影响

10℃处理下苜蓿幼苗的长度和鲜重均受到抑制,



显著低于 25℃处理。10℃处理 WL440 幼苗鲜重约是 25℃处理的 1/5,幼苗长度仅是 25℃处理的 1/3;肇东苜蓿也同样受到抑制,但温度对幼苗的影响程度较 WL440 稍小,10℃幼苗的鲜重是 25℃处理的 1/3,长度超过 25℃处理幼苗的 1/2(图 2)。25℃培养条件下,肇东苜蓿幼苗的鲜重和长度均显著低于 WL440;10℃处理下两个品种的鲜重和植株长度无明显差异。

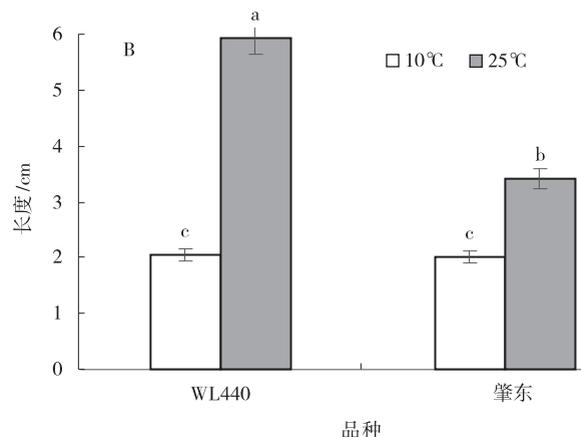


图 2 不同温度处理下 WL440 和肇东苜蓿幼苗的鲜重、长度

Fig. 2 Weight and length of WL440 and ZhaoDong under low temperature

2.3 低温处理对幼苗 H₂O₂ 及 MDA 含量的影响

25℃处理下 WL440 和肇东苜蓿的 H₂O₂ 含量约为 20 mmol/g,品种间无显著差异;而 10℃胁迫下两个品种的 H₂O₂ 含量,WL440 为 34.8 mmol/g,肇东苜蓿为 26.7 mmol/g,WL440 的增加幅度是肇东苜蓿的 2 倍,品种间差异显著($P < 0.05$)(图 3A)。

苜蓿幼苗的 MDA 含量变化与 H₂O₂ 一致。25℃培养幼苗的 MDA 含量较低,且品种间无显著差异;10℃胁迫下 MDA 含量显著增加,WL 440 幼苗的 MDA 含量显著高于肇东苜蓿,且 WL440 的增加幅度也大于肇东苜蓿(图 3B)。

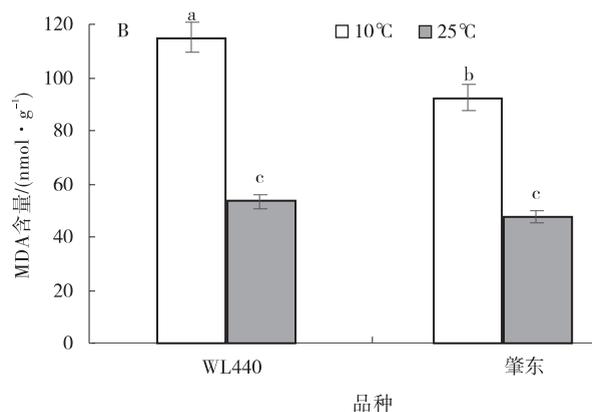
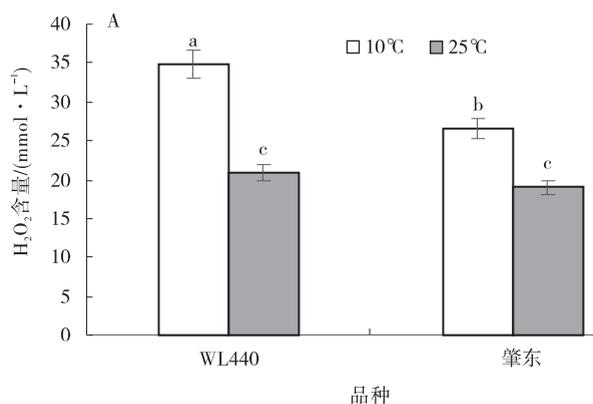


图 3 不同温度处理下 WL440 和肇东苜蓿幼苗 H₂O₂ 含量、MDA 含量

Fig. 3 H₂O₂ content and MDA levels of WL440 and ZhaoDong under low temperature

2.4 不同温度处理对幼苗 SP 含量的影响

低温处理下苜蓿幼苗的 SP 含量均显著高于常温处理幼苗,同一温度下不同品种幼苗的 SP 含量差异显著($P < 0.05$)。25℃下幼苗的 SP 含量:WL440 为 75.0 mg/mL,肇东苜蓿为 60.6 mg/mL,品种间差异

不显著;10℃处理幼苗的 SP 含量显著提高,较 25℃增加了约 4 倍,WL440 为 300.6 mg/mL,肇东苜蓿 272.8 mg/mL。肇东苜蓿的 SP 含量整体较低,但对比 10℃与 25℃下幼苗 SP 含量的变化发现,肇东苜蓿在 10℃胁迫下 SP 含量增加更显著(图 4)。

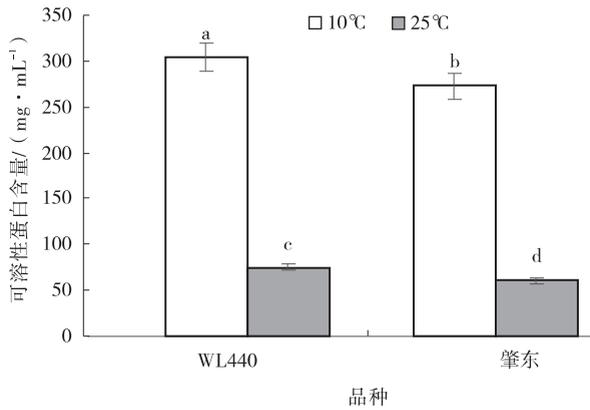
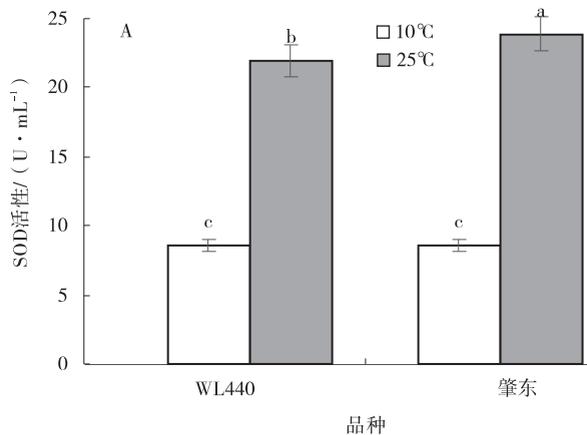


图 4 不同温度处理下 WL440 和肇东苜蓿幼苗 SP 含量

Fig. 4 SP content of WL440 and ZhaoDong under low temperature

2.5 低温处理对幼苗 SOD、POD 活性的影响

25°C 下幼苗的 SOD 活性可达到 23 U/mL 左右,



而 10°C 胁迫后幼苗的 SOD 活性仅 9 U/mL, 差异较大。25°C 下, 两个品种的 SOD 活性差异不显著, 肇东苜蓿略高于 WL440 (图 5A)。

幼苗 POD 活性变化趋势与 SOD 相似。同一温度下两个品种幼苗的 POD 活性无显著差异; 不同温度处理后, 同一品种的 POD 活性表现出显著差异, 10°C 胁迫使幼苗 POD 活性大幅度降低, 不到常温生长幼苗的 40% (图 5B)。

2.6 低温处理对幼苗 CAT 活性的影响

相同温度处理下两个苜蓿品种幼苗的 CAT 活性无显著差异; 同一苜蓿品种幼苗的 CAT 活性在低温处理下显著低于常温下幼苗。25°C 下幼苗的 CAT 活性为 3.3 U/mg, 而低温胁迫下幼苗的 CAT 活性不到 0.5 U/mg, 远远低于正常水平, 无法代谢细胞产生的活性氧基团, 导致其对细胞膜系统造成损坏 (图 6)。

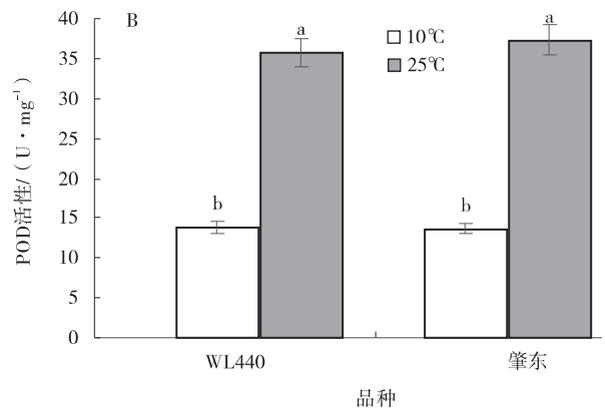


图 5 不同温度处理下 WL440 和肇东苜蓿幼苗 SOD、POD 活性

Fig. 5 SOD、POD activity of WL440 and ZhaoDong under low temperature

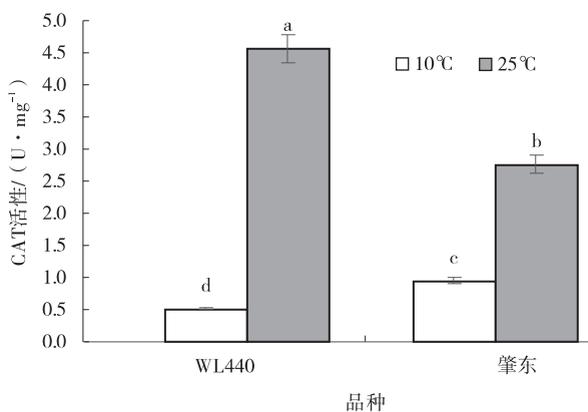


图 6 不同温度处理下 WL440 和肇东苜蓿幼苗 CAT 活性

Fig. 6 CAT activity of WL440 and ZhaoDong under low temperature

3 讨论

植物处于低温环境时通过自身的自然选择和遗传变异而产生的抗寒能力为抗寒性。植物抗寒性包括抗冷性和抗冻性, 植物对冰点以上低温的适应叫抗冷性, 对冰点以下低温的适应叫抗冻性^[17]。苜蓿对低温胁迫的响应及生理生化适应性都是十分复杂的过程, MDA、SP、SOD 等物质的含量或活性是判定植物抗寒性强弱的重要生理生化指标。其中, MDA 是反应植株受冻害严重程度的重要标志物, SP、SOD、POD 等则起保护作用, 使植物组织免受低温伤害^[18]。

本试验设置低温环境与常温环境, 观测种子萌发时各项指标的变化, 分析低温胁迫对种子萌发的影响。为了使试验具有代表性, 选择了两个品种, 肇东苜蓿作

为耐寒品种, WL440 作为寒冷敏感品种。结果显示: 低温显著抑制了苜蓿种子的萌发; 相同温度下生长的两个品种间各项指标也存在显著差异, 肇东苜蓿幼苗的耐寒性略高于 WL440。

3.1 低温胁迫对苜蓿种子萌发的影响

温度是制约植物生长发育的关键环境因素之一, 低温胁迫会抑制植株生物量积累^[19], 研究低温胁迫对种子萌发的影响具有重要意义。植物产生种子以躲避恶劣环境, 进行种群延续^[20], 种子萌发是植物从种子到植株的关键过渡阶段^[21-22], 种子的发芽能力是通过发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数等指标反映的, 种子的萌发状况会直接影响幼苗的生长及后期生物量。已有研究发现, 低温胁迫对植物幼苗地上及地下生物量均有影响^[23-24]。试验结果表明, 低温胁迫使苜蓿种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数均呈下降趋势, 并且对幼苗和幼根生长具有显著的抑制作用。

3.2 低温胁迫对苜蓿幼苗生理生化指标的影响

幼苗 MDA、H₂O₂ 含量反映了植株受害的严重程度。MDA 量的多少即膜质过氧化程度也能反映植物的抗寒能力^[25]; H₂O₂ 则是能量代谢过程中产生的活性氧, 其大量积累会对细胞和组织造成氧化损伤^[26]。本研究表明, 低温胁迫使苜蓿幼苗积累大量 MDA 和 H₂O₂, 二者含量较常温下生长的幼苗均提高 1 倍左右, 远远超出正常水平, 对幼苗造成不可逆转的伤害, 抑制其发育。而对比不同品种幼苗在低温胁迫下的表现可发现, 抗寒品种肇东苜蓿的 MDA 和 H₂O₂ 含量均低于 WL440, 且较自身对照组上升幅度更小, 说明抗寒性强的苜蓿在低温胁迫下膜质过氧化程度和受氧化损伤程度低, 因而具有较强的抗寒能力。试验结果与孙子璐、刘雨诗等的研究相似^[10, 27-29]。

SP 是一类亲水性的高分子化合物, 是植物体内重要的渗透调节物质^[30], 植物遭遇低温胁迫时, 会通过增加 SP 含量来提高细胞的保水能力, 增强植物的抗寒性^[31]。试验结果显示, 低温胁迫下幼苗的 SP 含量显著高于对照, 说明苜蓿幼苗通过增加细胞 SP 含量来抵御低温带来的伤害。高京草等^[31]的研究表明, 抗寒性较强的木枣的 SP 含量高于抗寒性差的晋枣, 且随着温度降低, 木枣 SP 含量的增加幅度也大于晋枣; 但也有研究发现, 植物在面临胁迫时蛋白合成途径会受阻, 从而通过将蛋白质分解为氨基酸来降低细胞渗透势, 提高细胞保水力^[32]。对比 WL440 与肇东苜蓿幼苗

在低温下的变化发现, WL440 的 SP 含量显著高于肇东苜蓿, 与对照幼苗相比 SP 含量的增加幅度也略大, 与前人试验不同, 后续需增加苜蓿品种进一步验证。

为种子萌发提供能量的代谢过程会产生活性氧, 若清除不及时而大量积累, 会对细胞和组织造成氧化损伤^[26], 植物的保护酶系统可以清除体内的活性氧, 减轻过量活性氧对植株的伤害^[33]。SOD 是保护酶系统的第一道防线, 能将毒性较强的 O²⁻ 转化为毒性较弱的 H₂O₂; CAT 与 POD 协同作用, 将 H₂O₂ 转化为 H₂O 和 O₂, 彻底清除活性氧对植物细胞的损害^[34-36]。本研究结果表明, 低温胁迫使苜蓿幼苗的保护酶系统失去活性, 不同正常作用。低温胁迫下幼苗的 SOD、POD、CAT 活性显著低于常温处理, 细胞的保护酶系统无法清除细胞产生的活性氧, 细胞内的活性氧与防御系统之间失去平衡。随着低温胁迫时间持续, 活性氧大量积累, 植株最终受伤害而死^[37]。

4 结论

低温胁迫对紫花苜蓿种子萌发具有显著的抑制作用; 延迟发芽时间, 降低发芽率, 影响幼苗生活力, 甚至使幼苗死亡; 低温环境下幼苗的细胞受损, 发生膜脂过氧化、活性氧积累, 而清除活性氧的保护酶系统又被低温抑制, 无法发挥作用, 使幼苗受到冻害; 植株通过增加可溶性蛋白含量来改变细胞的渗透调节能力, 在一定程度上消除活性氧的伤害, 减轻自身受冻害程度。

参考文献:

- [1] 崔国文. 低温胁迫对紫花苜蓿种子萌发期可溶性糖和淀粉的影响[J]. 东北农业大学学报, 2009, 40(1): 72-76.
- [2] 马周文, 秘一先, 鲁学思, 等. 低温胁迫对紫花苜蓿生理指标的影响[J]. 草原与草坪, 2016, 36(6): 60-67.
- [3] 秘一先, 鲁学思, 马周文, 等. 紫花苜蓿苗期抗寒敏感性生理生化指标的筛选[J]. 草原与草坪, 2016, 36(1): 35-42.
- [4] 董文科, 马祥, 周学文, 等. 外源甜菜碱对低温胁迫下紫花苜蓿幼苗生理特性的影响[J]. 草地学报, 2019, 27(1): 130-140.
- [5] Janowiak F, Maas B, Dörffling K. Importance of Abscisic Acid for Chilling Tolerance of Maize Seedlings[J]. Journal of Plant Physiology, 2002, 159(6): 635-643.
- [6] Schwab P M, Barnes D K, Sheaffer C C. The Relationship Between Field Winter Injury and Fall Growth Score for 251 Alfalfa Cultivars[J]. Crop Science, 1996, 36(2): 418-426.

- [7] Schwab P M, Barnes D K, Sheaffer C C, *et al.* Factors Affecting a Laboratory Evaluation of Alfalfa Cold Tolerance [J]. *Crop Science*, 1996, 36(2): 318—324.
- [8] 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.
- [9] 郝培彤, 宁亚明, 高秋, 等. 科尔沁沙地不同苜蓿品种越冬长期根颈耐寒生理机制的研究[J]. *草业学报*, 2019, 28(9): 87—95.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] 朱爱民, 张玉霞, 王显国, 等. 沙地生境不同苜蓿品种形态特征对低温的响应及其与抗寒性关系[J]. *草地学报*, 2018, 26(6): 1400—1408.
- [13] 惠竹梅, 王智真, 胡勇, 等. 24-表油菜素内酯对低温胁迫下葡萄幼苗抗氧化系统及渗透调节物质的影响[J]. *中国农业科学*, 2013, 46(5): 1005—1013.
- [14] Murasnie Tos Hio, Skoog FOLKE. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tohaoco Tissue Cultures[J]. *PHYSIOLOGIA PLANTARUM*, 1962, 15(3): 473—497.
- [15] 蔡锋隆, 张建斌, 李哲虎, 等. 盐胁迫下不同化学处理对紫花苜蓿种子萌发的影响[J]. *天津农业科学*, 2018, 24(12): 5—7.
- [16] 何万领, 李晓丽, 杨龙帮, 等. 膨润土对典型有机砷胁迫紫花苜蓿种子萌发与砷积累的影响[J]. *草地学报*, 2019, 27(1): 185—191.
- [17] 杨丹, 田新会, 杜文华. 红三叶新品系生理生化指标对低温的响应机理[J]. *草地学报*, 2019, 27(1): 163—169.
- [18] 亓春宇. 低温胁迫对 F2 代紫花苜蓿生理特性的影响及抗寒性研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨师范大学, 2017.
- [19] 梁丽建, 邓衍明, 孙晓波, 等. 外源 NO 对低温胁迫下红掌耐寒性诱导的研究[J]. *江苏农业科学*, 2018, 16(1): 82—85.
- [20] 宗文杰, 刘坤, 卜海燕, 等. 高寒草甸 51 种菊科植物种子大小变异及其对种子萌发的影响研究[J]. *兰州大学学报*, 2006, 42(5): 52—55.
- [21] 陆嘉惠, 吕新, 吴玲, 等. 三种药用甘草种子对盐渍环境的萌发响应及其适宜生态种植区[J]. *草业学报*, 2013, 22(2): 195—202.
- [22] 卢艳敏, 苏长青, 李会芬. 不同盐胁迫对白三叶种子萌发及幼苗生长的影响[J]. *草业学报*, 2013, 22(4): 123—129.
- [23] 杨德光, 孙玉珺, Irfan Ali-Raza, 等. 低温胁迫对玉米发芽及幼苗生理特性的影响[J]. *东北农业大学学报*, 2018, 49(5): 1—8, 44.
- [24] 陈胜萍, 刘晓光, 赵成萍, 等. 低温胁迫对不同番茄品种生长和生理生化指标的影响[J]. *山西农业大学学报(自然科学版)*, 2017, 37(11): 780—784.
- [25] 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, 167(4): 88—91.
- [26] 李江, 吴黄铭, 陈惠萍. 外源 CO 和 NO 对水稻种子萌发过程中干旱胁迫损伤的缓解效应[J]. *西北植物学报*, 2011, 31(4): 731—738.
- [27] 刘雨诗, 耿金才, 宋江湖, 等. 根瘤共生对紫花苜蓿抗寒性的影响[J]. *草地学报*, 2018, 26(3): 631—638.
- [28] 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.
- [29] 李莎莎, 张志强, 王亚芳, 等. 根瘤菌共生对低温胁迫下紫花苜蓿抗寒生理变化的影响[J]. *草地学报*, 2016, 24(2): 377—383.
- [30] 郭慧娟, 胡涛, 傅金民. 苏打碱胁迫对多年生黑麦草的生理影响[J]. *草业学报*, 2012, 21(1): 118—125.
- [31] 高京草, 王慧霞, 李西选. 可溶性蛋白、丙二醛含量与枣树枝条抗寒性的关系研究[J]. *北方园艺*, 2010(23): 18—20.
- [32] 张显强, 张宇斌, 王家远, 等. NaCl 胁迫对玉米幼苗叶片蛋白质降解和脯氨酸累积的影响[J]. *贵州农业科学*, 2002, 52(2): 3—5.
- [33] 张怀山, 赵桂琴, 栗孟飞, 等. 中型狼尾草幼苗对 PEG、低温和盐胁迫的生理应答[J]. *草业学报*, 2014, 23(2): 180—188.
- [34] 刘文瑜, 杨宏伟, 魏小红, 等. 外源 NO 调控盐胁迫下藜苜蓿种子萌发生理特性及抗氧化酶的研究[J]. *草业学报*, 2015, 24(2): 85—95.
- [35] 张巍巍, 郑飞翔, 王效科, 等. 臭氧对水稻根系活力、可溶性蛋白含量与抗氧化系统的影响[J]. *植物生态学报*, 2009, 33(3): 425—432.
- [36] 李西, 吴亚娇, 孙凌霞. 铅胁迫对三种暖季型草坪草生长和生理特性的影响[J]. *草业学报*, 2014, 23(4): 171—180.
- [37] 逯明辉, 宋慧, 李晓明, 等. 冷害过程中黄瓜叶片 SOD、CAT 和 POD 活性的变化[J]. *西北植物学报*, 2005, 25(8): 1570—1573.

ble monitoring method for accurate monitoring and research of alpine meadow community characteristics. The results showed that when the sample area was 1,2,4,6,and 8 m²,and the number of sample squares was 7, 12, 8, 26,5. 02,7. 38 and 16. 96, respectively,the total mean value of biomass sampling could be obtained. In view of the effectiveness of the test,the sample area was 1 m² and the sample number was 7 as the minimum area and sample number for biomass sampling. In species number monitoring,to sample more than 50% of the species in the community,the sample area should be 0. 68 to 1. 08 m²;to sample 70%,80%,and 95% of the species in the community,requiring the sample area to be 1. 00 to 1. 04,2. 73 to 4. 84,and 7. 09 to 20. 01 m², respectively. Correlation analysis shows that in a small scale,aboveground biomass was extremely significantly correlated with growth height,and significantly correlated with species numbers,and not correlated with coverage. correlation with coverage.

Key words: alpine meadow; minimum area; regression analysis

(上接 39 页)

Effects of chilling stress on seed germination of alfalfa

GAO Qian,XU Hong-yu,LI Zhen-song,HE Feng,TONG Zong-yong,LI Xiang-lin

(Institute Of Animal Science Of CAAS,Beijing 100193,China)

Abstract: Two alfalfa varieties,Zhaodong and WL440,were taken as cold-tolerant and non-cold-tolerant varieties respectively. The germination status of the two alfalfa varieties was recorded through the chilling stress treatment of low temperature at 10°C and 25°C as the control,and the physiological and biochemical indexes of 7-day-old seedlings were measured. Results showed that the germination rate of alfalfa decreased significantly,the germination time was prolonged,and seedlings grew slowly under chilling stress. Chilling stress can also damage cells and cause membrane peroxidation and accumulation of reactive oxygen species. The protective enzyme system with the function of removing reactive oxygen species was also inhibited by low temperature,leading to the imbalance between the generation and clearance of reactive oxygen species,and also the oxidative damage. The cells were damaged or even dead.

Key words: alfalfa;chilling stress;germination;antioxidant enzymes