

低温处理对矩镰苜蓿休眠态转变和生理的影响

刘艳,王霞,贾秀秀,方强恩*

(甘肃农业大学草业学院,草业生态系统教育部重点实验室,甘肃省草业工程实验室,中-美草地畜牧业可持续发展研究中心,甘肃 兰州 730070)

摘要:【目的】矩镰苜蓿(*Medicago archiducis-nicolai*)是青藏高原分布的一种野生优良牧草,抗寒性极强,但其越冬休眠与抗寒机理尚不清楚。本研究旨在明确矩镰苜蓿生理休眠发生与解除的低温条件以及低温环境下休眠提高矩镰苜蓿抗寒性的生理基础。【方法】以采自祁连山东段高寒草甸的野生矩镰苜蓿为试材,观测分析不同低温处理下矩镰苜蓿休眠状态的变化,测定休眠进入和破除前后的生理生化指标。【结果】2℃低温处理10~15 d,矩镰苜蓿再生高度显著下降,在低温15 d降到最低($P<0.05$),持续低温处理6 d后,再生高度快速增加;可溶性糖、脯氨酸含量和CAT、SOD酶活性随低温处理时间的延长呈先升后降的趋势,POD酶活性变化趋势则相反,但均显著高于对照(室温);9℃和2℃处理下的再生高度和生理生化指标变化规律基本一致。【结论】矩镰苜蓿对低温敏感,10℃以下持续低温处理10~15 d便进入生理休眠,随着处理时间的延长,休眠很快被解除;通过休眠态的转变,增强了渗透调节能力和抗氧化能力,从而提高了越冬抗寒性。

关键词:矩镰苜蓿;休眠;低温处理;生理特性

中图分类号:S541.9 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2023)05-0015-07

DOI:10.13817/j.cnki.cyyep.2023.05.003



温度作为植物生长的外界环境因素,影响着植物的萌发和生长发育^[1]。低温是十分常见的环境胁迫因子,限制了植物的地域分布,降低植物品质及产量,严重时会导致植物死亡^[2]。植物会因不同低温和低温持续时间导致不同程度的损伤,但在面对低温胁迫时,植物并非完全被动,常常会表现出积极主动的适应特性,如休眠(dormancy)。多年生植物在遭遇低温逆境时,主要通过休眠的方式来应对严酷的低温环境,等环境适宜时解除休眠,又重新恢复生长^[3]。一般认为,

植物休眠是指一年之中不良环境或季节来临之时,植物某些器官甚至整株处于生长缓慢或者暂时停止的一种状态^[4-5]。多年生植物的休眠是长期自然进化过程中形成的对环境和气候的生物学适应。Lang^[6]根据引起休眠的原因不同,将其分为相对休眠(para-dormancy)、生理休眠(endo-dormancy)和生态休眠(eco-dormancy)3类。自然条件下,进入休眠的植物需要经过一定时间的低温积累才能解除休眠、正常萌发生长,若低温不足,芽萌发及植物生长发育会出现异常,严重影响植物产量。目前,人们已对芍药(*Paeonia lactiflora*)^[7]、蓝莓(*Vaccinium* spp.)^[8]、西红花(*Crocus sativus*)^[9]、紫花苜蓿(*Medicago sativa*)^[10]等植物休眠问题进行了系统研究,揭示了这些植物通过休眠抵御冬季低温逆境的适应机制。休眠是植物生长周期内非常重要的生物特性,尤其对于北温带多年生植物,测定植物在休眠态转变过程中各项生理生化指标的变化,明晰休眠规律,对合理调节和利用休眠、开展

收稿日期:2022-02-23;**修回日期:**2022-04-10

基金项目:国家自然科学基金(31760703);甘肃省高校教师创新基金(2023A-49);草业生态系统教育部重点实验室开放课题(KLGE202212)

作者简介:刘艳(1998-),女,甘肃兰州人,硕士研究生。

E-mail:2216513381@qq.com

*通信作者。E-mail:fangqen@163.com

植物丰产提质栽培技术研究具有十分重要的理论价值和实践意义。

矩镰茛苳蓿(*Medicago archiducis-nicolai*)广泛分布于我国西北高寒牧区,是一种优良的野生豆科牧草,能够在高海拔极端环境中生存,具有很强的抗寒性和适应性^[11]。目前国内外对矩镰茛苳蓿休眠特性的研究鲜有报道,其抗寒机理尚不清楚。因此,本研究根据 James^[12]和 Wun 等^[13]提出的休眠判定方法,分析不同低温处理下矩镰茛苳蓿的休眠态的转变,测定休眠进入和破除前后生理生化指标的变化,以期回答两个问题:1)矩镰茛苳蓿生理休眠发生与解除的低温条件;2)低温环境下,休眠提高矩镰茛苳蓿抗寒性的生理基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

矩镰茛苳蓿采自甘肃省武威市天祝藏族自治县抓喜秀龙乡高山草原禁牧草地。2020年8月中旬挖取生长良好、长势一致的矩镰茛苳蓿带回实验室,在人工气候培养箱内盆栽培育 30 d(昼/夜温度:25℃/15℃,光照时间:14 h,光照强度:6000 lx)。栽培基质为草地原生土(黑钙土),生长期间进行常规管理。

1.2 试验设计

试材培育 1 月后,精选出生长健壮、无病虫害的矩镰茛苳蓿 75 盆,随机分成 3 份,每份 25 盆,分别移进 2℃、9℃和室温(昼/夜温度 25℃/15℃,对照组)3 个不同温度处理的光照培养箱中。在低温处理后的第 5、10、15、21、28 天从各光照培养箱中随机选取 5 盆,采集叶片鲜样,液氮迅速冷冻后置于-80℃冰箱中保存,用于生理指标测定,然后齐地剪去地上部分,移进室温培养箱恢复生长,15 d 后测定室温下的再生高度。

1.3 试验方法

1.3.1 休眠进程判断 参考 Jame^[13]和 Wun 等^[14]划分休眠进程的方法,在低温处理后第 5、10、15、21、28 天共 5 次取样中,每次随机选取 5 盆,齐地剪去地上部分,移进室温培养箱(目的是根据地下芽的再生情况判断休眠状态),生长 15 d 后,测量地下芽萌发出土发育成新枝的高度(绝对高度),每盆测量 5 枝,5 次重复。同时,把室温培养条件下生长的矩镰茛苳蓿选取 5 盆进行同样的处理,再生长 15 d 后测量再生高度作为对

照。如果低温处理后再生高度低于对照,表明植株进入了生理休眠状态;若与对照相同或更高,表明休眠已解除。

1.3.2 生理指标的测定 可溶性糖(SS)含量和淀粉含量的测定采用蒽酮法;脯氨酸(Pro)含量的测定采用茚三酮法;过氧化氢酶(CAT)活性的测定采用比色法(240 nm 波长);超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用氮蓝四唑(NBT)法;过氧化物酶(POD)活性的测定采用愈创木酚法^[11]。

1.4 数据分析

用 SPSS 软件对数据进行方差分析,并且使用 Microsoft Excel 2010 进行数据整理、运算及图表的绘制。

2 结果与分析

2.1 低温处理下矩镰茛苳蓿休眠态的转变

低温处理 5~10 d 时,矩镰茛苳蓿再生高度呈上升趋势,之后随着低温时间延长,再生高度先降后升。低温处理 10 d 后,2℃和 9℃处理下的矩镰茛苳蓿再生高度与室温条件比,有增加趋势,但差异不显著。随后低温持续 10~15 d,矩镰茛苳蓿再生高度逐渐降低,在低温处理 15 d 降到最低;低温处理下再生高度均低于室温;此后低温处理 15~28 d,矩镰茛苳蓿再生高度有上升的趋势,且不同低温处理下的再生高度均高于室温,这表明持续低温处理 15 d 后矩镰茛苳蓿进入了生理休眠状态,随后低温又很快打破了休眠,2℃和 9℃处理下的变化规律基本一致(图 1)。

低温处理下叶绿素含量随处理时间的延长整体呈现先降低后升高的变化趋势,在低温 15 d 降到最低

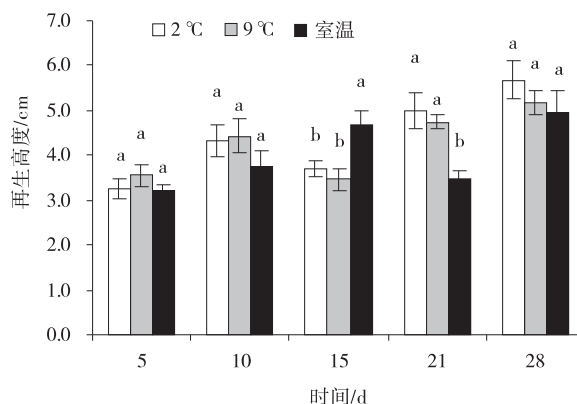


图 1 矩镰茛苳蓿不同低温处理时间下的再生高度
Fig. 1 Regeneration height of *Medicago archiducis-nicolai* under different low temperature treatments

注:图中不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),下同

(图 2)。低温处理 10~15 d, 2℃和 9℃低温下叶绿素含量逐渐降低, 且均显著低于室温(对照组)($P < 0.05$), 持续低温处理 6 d 后, 叶绿素含量有上升的趋势(图 2)。

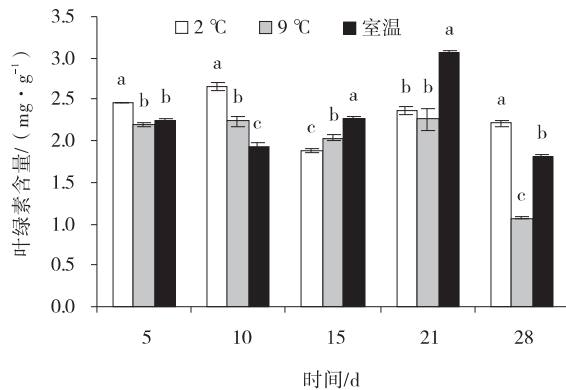


图 2 低温处理下矩镰荚苜蓿叶片的叶绿素含量

Fig. 2 Chlorophyll content in *Medicago archiducis-nicolai* leaves under low temperature treatments

2.2 低温处理下矩镰荚苜蓿渗透调节物质的变化

2.2.1 可溶性糖含量的变化 低温处理下矩镰荚苜蓿叶片中 SS 含量均显著高于室温($P < 0.05$)。不同低温处理下 SS 含量随着处理时间的延长整体呈先升后降的变化趋势, 在 15 d 持续低温下, 叶片中 SS 的含量升到最高。其中, 低温处理 5~10 d, 随着温度的降低, SS 含量逐渐增加, 2℃低温处理下叶片中 SS 含量上升幅度大于 9℃低温处理($P < 0.05$); 低温处理 10~15 d, 叶片中 SS 含量持续上升, 低温 15 d 达到最大值; 此后低温 15~21 d, 2℃和 9℃低温处理下矩镰荚苜蓿叶片中 SS 含量快速减少(图 3)。

2.2.2 脯氨酸(Pro)含量的变化 不同低温处理下叶片中 Pro 含量始终显著高于室温(对照组)($P <$

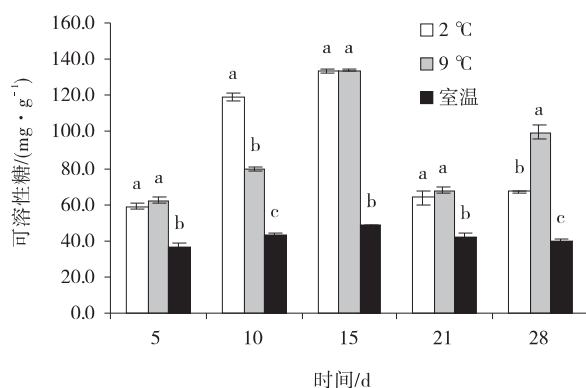


图 3 低温处理下矩镰荚苜蓿叶片的可溶性糖含量

Fig. 3 Soluble sugar content in *Medicago archiducis-nicolai* leaves under low temperature treatments

0.05)。2℃低温处理下叶片中 Pro 含量随着胁迫时间延长呈现先上升后下降的变化趋势, 在低温处理 15 d 后达到最大值, 为 910.0 $\mu\text{g/g}$; 而 9℃低温处理下的 Pro 含量随着胁迫时间延长变化趋势不明显。低温处理 5~10 d 和 10~15 d, 随着冬季气温的下降, 叶片中 Pro 含量持续积累。其中, 2℃低温处理下叶片中 Pro 含量增加速度均快于其他处理组, 表明随着温度的降低, Pro 含量累积速度逐渐加快(图 4)。

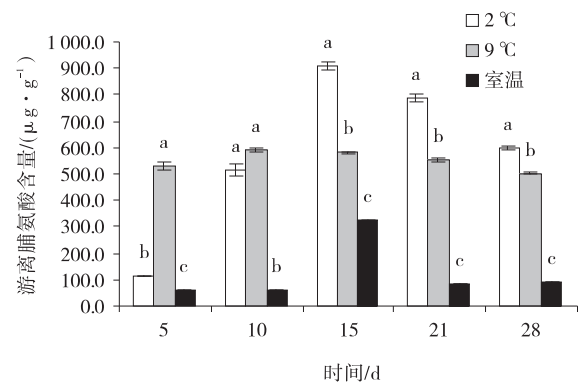


图 4 低温处理下矩镰荚苜蓿叶片的 Pro 含量

Fig. 4 Proline content in *Medicago archiducis-nicolai* leaves under low temperature treatments

2.3 低温处理下矩镰荚苜蓿淀粉含量的变化

在不同低温处理中, 矩镰荚苜蓿叶片中淀粉含量随着其休眠态的变化总体上呈现先上升后下降的变化趋势。9℃低温下叶片中淀粉含量均显著高于室温(对照组)($P < 0.05$); 而 2℃处理下淀粉含量仅在低温 15 d 时低于室温。低温 5~10 d, 随着温度的降低叶片中淀粉含量上升的速度较快; 持续低温 10~15 d, 不同低温处理下叶片中淀粉含量随着处理时间的延长在低温 15 d 时降到最低, 淀粉与可溶性糖含量的变化正好相反(图 5)。

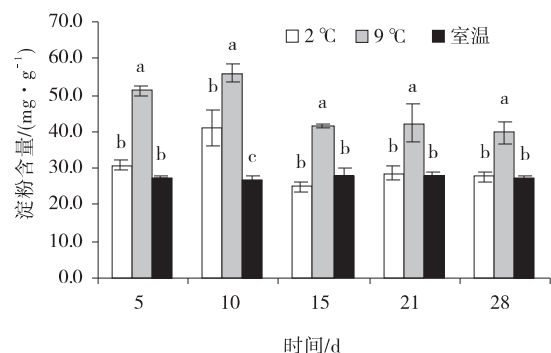


图 5 低温处理下矩镰荚苜蓿叶片的淀粉含量

Fig. 5 Starch content in *Medicago archiducis-nicolai* leaves under low temperature treatments

2.4 低温处理下矩镰荚苜蓿抗氧化酶活性的变化

2.4.1 过氧化氢酶(CAT)活性的变化 不同低温处理中,矩镰荚苜蓿叶片中CAT活性均高于室温;然而2℃低温处理15 d后CAT活性为13.1 U/g,低于室温,具有显著性差异($P<0.05$)。2℃低温条件下叶片中CAT活性随处理时间的延长呈现先上升后下降的变化趋势,而9℃低温条件下叶片中CAT活性的变化趋势不明显。低温处理5~10 d,随着温度的降低叶片中CAT酶活性逐渐增加,2℃低温下叶片中CAT活性上升幅度大于9℃低温处理($P<0.05$);持续低温10~15 d,叶片中CAT酶活性快速减少,其中2℃低温下的叶片中CAT活性降低速度快于其他处理组(图6)。

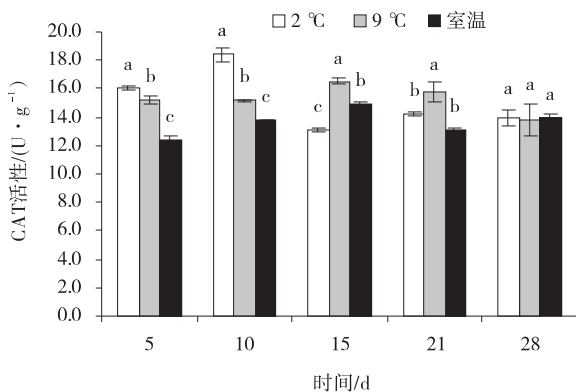


图6 低温处理下矩镰荚苜蓿叶片的CAT活性

Fig. 6 CAT activity in *Medicago archiducis-nicolai* leaves under low temperature treatments

2.4.2 超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化 随着低温处理时间的增加,矩镰荚苜蓿叶片中SOD活性呈现先升高后降低的变化趋势。不同低温胁迫下,叶片中SOD酶活性上升最大值出现的天数不同,低温10 d后,2℃处理下叶片中SOD活性上升到最高,为674.9 u/g;低温15 d后,9℃处理下叶片中SOD活性上升到最高,为698.5 u/g,且不同低温处理与室温相比差异显著($P<0.05$)。

2.4.3 过氧化物酶(POD)活性的变化 随着低温处理时间的变化,2℃低温条件下矩镰荚苜蓿叶片中POD活性随时间的延长呈现降低的趋势,但始终显著高于室温($P<0.05$)。9℃低温处理下叶片中POD活性随处理时间的延长呈现降低—升高—降低的变化趋势,在低温15 d后升到最高,然而低温处理5 d和21 d后,叶片中POD活性低于室温。

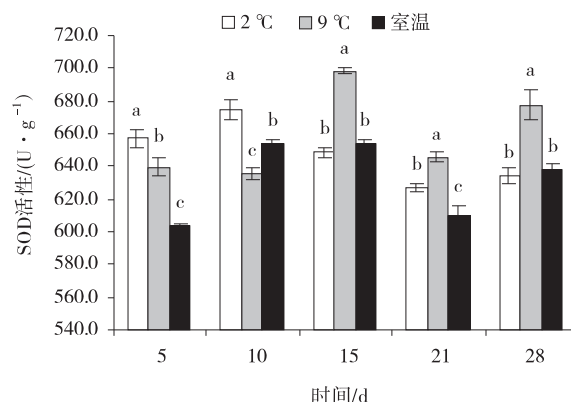


图7 低温处理下矩镰荚苜蓿叶片的SOD活性

Fig. 7 SOD activity in *Medicago archiducis-nicolai* leaves under low temperature treatment

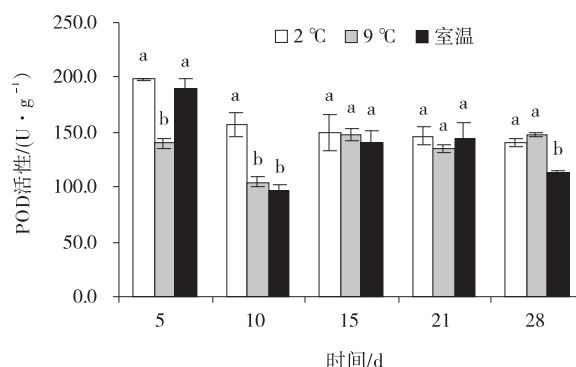


图8 低温处理下矩镰荚苜蓿叶片的POD活性

Fig. 8 POD activity in *Medicago archiducis-nicolai* leaves under low temperature treatments

3 讨论

休眠是多年生植物普遍存在的一种复杂的生理现象,从表观来看,植物休眠是所有有分生能力的组织结构暂时停止生长的生物学过程^[14]。根据Lang^[7]的观点,植物在周年生长中为了适应各种复杂环境,存在3种类型的休眠:相对休眠、生理休眠和生态休眠。相对休眠是侧芽生长被其他活跃生长的部位(如顶端分生组织)抑制而出现的休眠,一般发生在春夏季;生理休眠是由植物内源因素引起,需要经过一定时间的低温刺激后才能解除,一般发生在秋冬季;生态休眠往往在生理休眠已经结束、但外界环境依然不适宜萌发生长时发生,是由外因决定的休眠过程,只要不利环境消失,这类休眠便会随之解除,植物又重新开始生长,生态休眠一般发生在植物春季萌发之前。北方本土植物对当地气候十分适应,在周年生长中能通过不同休眠态之间的转变积极响应环境变化,尤其在秋季低温短日照下,能通过生理休眠调整植物

内部状态应对即将来临的寒冷胁迫^[15]。植物生理休眠态的判定在木本植物中研究很多,判定方法主要是观察休眠芽的外部形态,观察指标有:驻芽数量、芽萌发率、50%芽萌发所需时间等^[10]。但相比木本植物,前人对草本植物生理休眠态转变的研究非常有限。James^[12]和Wun等^[13]系统研究了乳浆大戟(*Euphorbia esula*)地下芽休眠态的转变与分子调控机制,提出了一套判定多年生草本植物生理休眠的方法,这为草本植物休眠机理研究提供一个非常成功的范例。该方法巧妙的利用了Lang提出的3类休眠的特性差异,从秋季开始把盆栽在田间生长的植株定期转移到温室,剪去地上部分(去除了顶芽和叶片中的抑制信号),在温室生长一定时期后测量新芽的生长高度,以此来判断自然越冬期植物休眠态的变化。根据这一方法,在本试验中,2℃和9℃低温处理不同时间后,剪去地上部分,移入室温环境,测量生长15d的再生高度,发现矩镰茛苳蓓在2℃和9℃低温处理10~15d,植株的再生高度均显著下降并在低温15d后降到最低,持续低温处理,再生高度很快出现上升趋势(图1),由此表明,持续低温处理15d后矩镰茛苳蓓便进入了生理休眠状态,随后的低温又很快打破了生理休眠。9℃和2℃低温处理下的变化规律基本一致,这表明该植物对秋季低温非常敏感。

渗透调节物质在植物低温胁迫过程中发挥着重要作用,可溶性糖、脯氨酸等渗透调节物质含量的增加可减少细胞失水、维持细胞渗透压并减少低温对植物细胞的机械损伤和破坏,从而提高植物的越冬抗寒性^[16]。周延^[17]研究了枣(*Ziziphus jujuba*)休眠期间可溶性糖含量随气温下降的变化,结果显示,枣进入休眠,代谢开始减弱,随着温度的下降,淀粉转化为可溶性糖;当休眠解除后,可溶性糖含量逐渐降低,分析认为休眠期间可溶性糖含量的积累有助于枣抵御低温逆境。前人在芍药^[7]、荷花(*Nelumbo nucifera*)^[18-19]、紫荆(*Cercis chinensis*)^[20]等多种植物休眠研究中也发现了相似的规律。脯氨酸作为植物体内又一种重要的渗透调节物质,随着植物休眠进程的深入其含量会升高,脯氨酸的积累既可增加渗透调节能力,又可抵抗低温胁迫对植物的伤害^[17,21]。王雪如^[22]在狗牙根(*Cynodon dactylon*)中研究发现,脯氨酸含量随温度

的降低呈现升高的趋势,在10月份已经完全进入休眠阶段,此时脯氨酸含量达到最大。在本研究中,2℃和9℃低温处理10~15d,激活了淀粉酶的活性,淀粉转化为可溶性糖,此时脯氨酸含量也达到最高。可溶性糖和脯氨酸含量的累积,增强了矩镰茛苳蓓的渗透调节能力,同时也提高了细胞液浓度和细胞渗透压,从而降低冰点,以此来提高矩镰茛苳蓓的越冬抗寒性。

植物在休眠的过程中主要通过叶片来感知一系列的生长变化,而体内产生大量的活性氧可攻击叶片中生命大分子物质和细胞壁,造成机体的损伤^[23]。通常认为SOD在植物细胞内主要将超氧化物催化分解为基态氧和H₂O₂,POD和CAT是植物体内清除H₂O₂的主要抗氧化酶类^[24]。研究表明紫花苜蓿在自然越冬期SOD酶活性随着其休眠态的变化总体上呈现先上升后下降再上升的变化趋势;POD活性呈先降低后升高的趋势,POD和SOD的协同作用有效的保护了膜脂不受伤害,增加了植物对低温的适应能力;CAT活性随着其休眠态的变化总体上呈现先上升后下降的变化趋势^[10],类似的结果在其他植物休眠过程中也有发现,如韭菜(*Allium tuberosum*)^[25]、杏树(*Prunus sarmeniaca*)^[26]和葡萄(*Vitis vinifera*)^[27]等。张昂^[28]在研究葡萄休眠过程中发现,CAT活性在休眠期间上升,在休眠解除之后下降;POD在植物休眠过程中呈现上升的趋势,而在休眠结束之后表现为下降。本试验测定了不同低温处理下矩镰茛苳蓓休眠进入和破除前后抗氧化酶的变化,结果显示,2℃和9℃持续低温处理下,矩镰茛苳蓓叶片中CAT活性呈先升后降的趋势;SOD活性在10~15d上升到最大值,随着低温处理时间的延长,SOD活性很快出现下降趋势;在2℃低温处理5d,叶片中POD活性上升至最大值,持续低温处理POD活性缓慢降低,但均显著高于对照(室温)。据上述分析,低温处理下矩镰茛苳蓓SOD、CAT、POD3种抗氧化酶相互协同作用,维持了活性氧与活性氧清除系统间的平衡,抗氧化能力逐渐增强,从而提高了越冬抗寒性。

4 结论

矩镰茛苳蓓对低温非常敏感,在10℃以下持续低温处理10~15d,植株再生能力会显著降低,植物进入生理休眠状态;随着低温处理时间的延长,生理休眠

很快被解除;在生理休眠进入前后随休眠状态的转变,矩镰苳苳体内渗透调节物质和抗氧化酶活性发生了显著变化,持续低温处理后,渗透调节能力和抗氧化能力增强,从而提高了越冬抗寒性,以此适应高寒地区严酷的冬季低温胁迫。

参考文献:

- [1] 王代军,温洋. 温度胁迫下几种冷季型草坪草抗性机制的研究[J]. 草业学报,1998,7(1):75—80.
- [2] 刘艳菊,徐玉芬,贾效成. 油茶低温胁迫响应机制研究进展[J]. 现代农业科技,2021(18):27—29+32.
- [3] Wisniewski Michael, Norelli John, Bassett Carole, *et al.* Ectopic expression of a novel peach (*Prunus persica*) CBF transcription factor in apple (*Malus×domestica*) results in short-day induced dormancy and increased cold hardiness [J]. Planta,2011,233 (5):971—983.
- [4] 王永飞,王鸣,王得元,等. 种子休眠机制的研究进展[J]. 种子,1995(6):35—37.
- [5] 白宝璋,田纪春,王清连. 植物生理学(上:理论教程) [M]. 北京:中国农业出版社,1996:12.
- [6] Lang G A. Dormancy: a new universal terminology [J]. Hortscience,1987,22(5):817—820.
- [7] 张佳平. 芍药在杭州栽培的耐热评价及地下芽休眠机理研究[D]. 杭州:浙江大学,2015.
- [8] 李波,夏秀英,刘思. 蓝莓花芽休眠与解除过程中生理生化变化及DNA甲基化差异分析[J]. 植物生理学报,2015,51(7):1133—1141.
- [9] 刘钰萍,胡静,谭瑾,等. 西红花球茎休眠阶段生理生化变化研究[J]. 中药材,2020,43(2):264—269.
- [10] 方强恩. 紫花苳苳根颈芽发育成枝及越冬休眠特性研究 [D]. 兰州:甘肃农业大学,2016.
- [11] 颜家全,魏甲科,齐帅,等. 切段长度、种植深度和覆草厚度对矩镰苳苳地下茎扩展能力的影响[J]. 草原与草坪,2021,41(5):139—147.
- [12] JAMES V ANDERSON, RUSS W GESCH, YING JIA, *et al.* Seasonal shifts in dormancy status, carbohydrate metabolism, and related gene expression in crown buds of leafy spurge [J]. Plant, Cell & Environment, 2005,28(12):1365—3040.
- [13] Wun S Chao, Marcelo D Serpe, James V Anderson, *et al.* Horvath. Sugars, hormones, and environment affect the dormancy status in underground adventitious buds of leafy spurge (*Euphorbia esula*) [J]. Weed Science, 2006, 54 (1):59—68.
- [14] Rohde A, Bhalerao R P. Plant dormancy in the perennial context [J]. Trends in Plant Science, 2007, 12 (5) : 217—223.
- [15] 刘志英,李西良,李峰,等. 紫花苳苳秋眠性对低温驯化过程与越冬耐寒适应的作用机理[J]. 植物生态学报, 2015,39(6):635—648.
- [16] 李文明,辛建攀,魏驰宇,等. 植物抗寒性研究进展 [J]. 江苏农业科学,2017,45(12):6—11.
- [17] 周延. 米枣芽休眠特征及解除休眠的研究[D]. 雅安:四川农业大学,2013.
- [18] 孙丽娜. 碗莲休眠生理及休眠特性研究[D]. 郑州:河南农业大学,2008.
- [19] 黄勇琴. 自然越冬过程中冬荷抗寒及休眠生理生化特性研究[D]. 郑州:河南农业大学,2012.
- [20] 高云鹏. 紫荆种子休眠解除过程中生理生化变化及分子机理研究[D]. 南京:南京林业大学,2020.
- [21] 严寒静,谈锋. 梔子叶片生理特性与抗寒性的关系[J]. 植物资源与环境学报,2005,14(4):21—24.
- [22] 王雪如,闫锋,张海燕,等. 狗牙根地下芽休眠进程中生理物质的变化规律[J]. 新疆农业科学,2021,58(8): 1486—1492.
- [23] Martinez—reyes I, Cuezva J M. The H(+)—ATP synthase: Agate to ROS—mediated cell death or cell survival [J]. Biochimica Biophysica Acta, 2014, 1837(7):1099—1112
- [24] 逯明回,宋慧,李晓明. 冷害过程中黄瓜叶片SOD、POD和CAT活性变化[J]. 西北植物学报,2005,25(3): 1570—1573.
- [25] 张曙东. 韭菜越冬期间的休眠特性及可溶性糖含量与酶活性的变化[D]. 泰安:山东农业大学,2005.
- [26] 庞发虎,杜俊杰,刘飞. 杏树休眠期枝芽内抗氧化系统酶活性变化的研究[J]. 湖北民族学院学报(自然科学版), 2004,22(4):27—30.
- [27] 张昂. 葡萄冬芽打破休眠过程中抗氧化机制及次生代谢的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2008.
- [28] 陈新华,郭宝林,赵静,等. 休眠期内甜樱桃不同品种枝条的抗寒性[J]. 河北农业大学学报,2009,32(6): 37—40.

Effects of low temperature treatment on shifts in dormancy status and physiological characteristics of wild *Medicago archiducis-nicolai*

LIU Yan, WANG Xia, JIA Xiu-xiu, FANG Qiang-en*

(College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory for Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Grassland Engineering Laboratory of Gansu Province, Sino-U. S. Centers for Grazing Land Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China)

Abstract: [Objective] *Medicago archiducis-nicolai* is a one of excellent wild forages distributed in Qinghai—Tibet Plateau, with strong cold resistance, but its winter dormancy and cold resistance mechanism is unclear. [Method] In this study, the shifts of dormancy status of *M. archiducis-nicolai* were investigated and analyzed under different low temperature treatments, and the physiological and biochemical indexes of *Medicago archiducis-nicolai* before and after dormancy were measured. [Result] The results showed that the regeneration height of *M. archiducis-nicolai* decreased significantly at 2 °C for 10~15 days and reached the lowest at 15 days ($P < 0.05$). Under continuous low-temperature conditions, the regeneration height exhibited an upward trend. The levels of soluble sugar and proline, as well as the activities of the CAT and SOD antioxidant enzymes, initially increased and then decreased with the duration of low temperature treatment. However, POD activity showed the opposite trend, but all these values were significantly higher than the control (at room temperature). The changes observed at 9 °C and 2 °C were essentially the same. [Conclusion] Analysis of the results indicates that *M. archiducis-nicolai* is sensitive to low temperature. Endo-dormancy is induced after 10~15 days of continuous low-temperature treatment below 10 °C, and the dormancy is quickly relieved with extended treatment time. Through the modulation of dormancy, *M. archiducis-nicolai* enhances its osmotic regulation and antioxidant capabilities, thus improving its winter cold resistance.

Key words: *Medicago archiducis-nicolai*; dormancy; low temperature treatment; physiological characteristics