

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2026.02.023

引用格式:段伟,穆妮热·米吉提,加米丽古丽·伊明,等.20份黄花苜蓿种质低温胁迫生理响应及抗寒性评价[J].草地学报,2026,34(2):611—623

DUAN Wei, MIJIT Munire, YIMIN Jamilaigul, et al. Physiological Responses to Low-Temperature Stress and Cold Resistance Evaluation of 20 *Medicago falcata* Germplasms[J]. Acta Agrestia Sinica, 2026, 34(2):611—623

20份黄花苜蓿种质低温胁迫生理响应及抗寒性评价

段伟,穆妮热·米吉提,加米丽古丽·伊明,王玉祥,李倩*

(西部干旱荒漠区草地资源与生态教育部重点实验室,新疆农业大学草业学院,新疆乌鲁木齐830052)

摘要:为筛选耐寒型黄花苜蓿(*Medicago falcata*)材料并阐明其低温生理响应机制,本研究系统评价了20份种质在梯度低温胁迫(25℃,10℃,5℃,0℃)下的生理及叶绿素荧光特性。通过测定7项关键指标发现:随温度降低,丙二醛(Malondialdehyde,MDA)、可溶性糖(Soluble sugar,SS)、脯氨酸(Proline,Pro)含量及初始荧光(Initial fluorescence, F_0)呈上升趋势,在0℃均显著增加($P<0.05$);而叶绿素相对含量(Soil and plant analyzer development,SPAD)、最大荧光(Maximum fluorescence, F_m)和PS II最大光化学效率(Maximal photochemical efficiency of photosystem II, F_v/F_m)呈下降趋势。基于隶属函数法结合标准差系数赋权法的综合评价表明, M_4 , M_1 , M_{10} 等种质表现出较强耐寒性。逐步回归分析进一步建立了耐寒性预测模型($R^2=0.932$),确定 F_v/F_m 和SS含量为关键评价指标。研究结果为苜蓿抗寒育种提供了优异种质和理论依据,建议后续结合组学等技术深入解析其分子调控网络。

关键词:黄花苜蓿;低温胁迫;生理响应;叶绿素荧光;耐寒性评价

中图分类号:S541.9

文献标识码:A

文章编号:1007-0435(2026)02-0611-13

Physiological Responses to Low-Temperature Stress and Cold Resistance Evaluation of 20 *Medicago falcata* Germplasms

DUAN Wei, MIJIT Munire, YIMIN Jamilaigul, WANG Yu-xiang, LI Qian*

(Key Laboratory of Grassland Resources and Ecology of Western Arid Region Ministry of Education, College of Grassland Science
Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052, China)

Abstract: To screen cold-tolerant *Medicago falcata* germplasms and to clarify their physiological response mechanisms to low-temperature stress, this study systematically evaluated the physiological and chlorophyll fluorescence characteristics of 20 accessions under gradient low-temperature stresses (25℃, 10℃, 5℃, 0℃). By measuring seven key indicators, it was found that the contents of malondialdehyde (MDA), soluble sugar (SS), and proline (Pro), as well as the level of initial fluorescence (F_0), exhibited upward trends with decreasing temperature, all significantly increasing at 0℃ ($P<0.05$); while the relative chlorophyll content (Soil and plant analyzer development, SPAD), maximum fluorescence (F_m), and maximum photochemical efficiency of PS II (Maximal photochemical efficiency of photosystem II, F_v/F_m) showed downward trends. A comprehensive evaluation using the membership function method combined with the standard deviation coefficient weighting method identified M_4 , M_1 , and M_{10} as accessions with stronger cold tolerance. Stepwise regression analysis further established a cold tolerance prediction model ($R^2=0.932$), confirming F_v/F_m and SS content as critical evaluation indices. These results provide excellent germplasm resources and a theoretical basis for cold-tolerance breeding of alfalfa, and it is recommended that future research integrate omics technologies to further elucidate the underlying molecular regulatory networks.

Key words: *Medicago falcata*; Low-temperature stress; Physiological response; Chlorophyll fluorescence; Cold resistance evaluation

收稿日期:2025-04-10;修回日期:2025-05-21

基金项目:新疆维吾尔自治区重点研发项目(2023B02031);自治区人才发展基金“天池英才”引进计划项目;作物学博士后流动站资助

作者简介:段伟(2001-),男,汉族,湖南衡阳人,硕士研究生,主要从事草种质资源育种研究,E-mail:1929674782@qq.com;*通信作者
Author for correspondence, E-mail:540794898@qq.com

低温是限制植物生长发育的关键非生物胁迫因子,通过破坏细胞膜完整性、抑制光合作用及代谢活性,直接影响作物越冬存活率和品质^[1]。近年来,全球极端低温事件的强度和频率持续增加,使突发性低温胁迫成为农业生产中最突出的非生物胁迫之一^[2]。新疆等北方寒旱农业区因特殊地理气候条件,冬季极寒与春季倒春寒频发,低温灾害风险尤为突出^[3]。开展作物抗寒生理机制解析及耐寒种质筛选工作,对构建新疆寒旱区抗逆稳产作物体系,具有迫切且现实的意义。

紫花苜蓿(*Medicago sativa*)因高产、优质、适应性强及适口性好等特性,成为我国北方畜牧业重要的蛋白饲料来源^[4]。北方作为主产区,冬季寒冷和春季倒春寒频繁导致苜蓿难以越冬,返青率低,严重制约产业发展^[5]。当前紫花苜蓿苗期耐寒性评价研究主要基于4个维度的响应机制:生物膜稳定性、渗透调节物质积累、抗氧化酶系统活性及光合机构功能,并通过隶属函数法进行综合评价。研究显示,抗寒性强的紫花苜蓿在低温胁迫下通过增强过氧化氢酶(Catalase, CAT)、过氧化物酶(Peroxidase, POD)和超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活性以清除活性氧自由基^[6-7],同时积累可溶性蛋白(Soluble protein, SP)、可溶性糖(Soluble sugar, SS)和脯氨酸(Proline, Pro)等渗透调节物质来提升抗寒能力^[8-10]。低温会破坏细胞膜稳定性,表现为丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量上升和相对电导率(Relative electrolyte conductivity, REC)增大,而耐寒性强的紫花苜蓿品种MDA和REC增幅较小且恢复能力更强^[11-12]。此外,低温抑制叶绿素合成及光合作用,耐寒品种在低温胁迫下仍能保持较高的叶绿素含量和光合效率,表明其光合机构对低温的耐受性更强^[12-13]。

黄花苜蓿(*M. falcata*)隶属于豆科苜蓿复合体,与紫花苜蓿存在近缘演化关系,其显著特征是兼具耐旱、抗寒及耐盐碱等复合抗逆特性^[14]。黄花苜蓿是构建抗逆基因库的核心种质,为苜蓿抗性品种选育提供关键遗传资源^[15]。系列抗寒性比较研究揭示,在低温胁迫环境下,黄花苜蓿表现出显著优于紫花苜蓿的生存能力:孙昊等^[16]以黄花苜蓿和8个紫花苜蓿品种为材料,经模拟低温处理、指标测定及分析,多品种对比试验证实黄花苜蓿耐寒性最强;王明莹^[17]在9个苜蓿品种抗寒鉴定中观测到其显著优势;陈卫东等^[18]开展的低温梯度实验进一步验证了该物

种的低温适应优势。这些发现确立了黄花苜蓿在寒区苜蓿遗传改良及抗寒机理研究中的重要地位。尽管我国已建立较完善的黄花苜蓿种质资源库^[15],当前研究仍存在明显失衡——紫花苜蓿持续占据研究主流,而关于黄花苜蓿的低温响应分子机制及优良种质筛选的系统研究尚显不足。基于此,本研究选择20个新疆野生黄花苜蓿种质开展低温生理研究,探究黄花苜蓿幼苗对低温胁迫的生理生化响应,并从膜损伤、渗透调节、叶绿素和叶绿素荧光4个方面进行了抗寒性综合评价,旨在筛选出抗寒性强的材料,为进一步选育抗寒型苜蓿新品种提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选取20份黄花苜蓿种质为试验材料,均为新疆野生种质资源。材料均由新疆农业大学草种质资源与育种实验室提供,具体信息见表1。

1.2 试验设计

挑选各种质籽粒饱满、无机械损伤的种子各50粒,采用75%酒精溶液表面消毒10 min,蒸馏水冲洗3次。用消毒刀片沿胚轴对侧划破种皮,平铺于垫有双层湿润滤纸的培养皿中,置于25℃恒温培养箱进行培养。期间补充蒸馏水保持湿度,培养至第5 d时,筛选根长相对一致的幼苗移栽至底部带排水孔的塑料花盆(直径80 mm,高度90 mm),栽培基质为营养土:蛭石=3:1(v/v)。置于人工气候室培养,环境参数设置为:光周期16 h/8 h(昼/夜),光强约为 $300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,昼温(25 ± 1)℃/夜温(22 ± 1)℃,相对湿度(60 ± 5)%。每周浇灌1/2Hoagland营养液2次。生长至30 d后,选择长势相对一致的幼苗,将其转移至不同温度设置(25℃, 10℃, 5℃, 0℃)的低温培养箱中(光周期16 h/8 h,光强约为 $300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$),每个种质各处理3盆。在不同温度下培养48 h后测定叶绿素和荧光指标,并收集叶片用于后续指标测定。

1.3 测量指标及方法

叶绿素相对含量(Soil and plant analyzer development, SPAD)用手持式叶绿素计(SPAD-502 Plus, Minolta Camera Co., Osaka, Japan)测量;叶绿素荧光相关指标[初始荧光(Initial fluorescence, F_0)、最

大荧光(Maximum fluorescence, F_m)和光系统 II 最大光化学效率(Maximal photochemical efficiency of photosystem II, F_v/F_m)]使用手持式叶绿素荧光仪(Hansatech Instruments Ltd., Norfolk, UK)测量;使用试剂盒测量可溶性糖(Soluble Sugar, SS)、脯氨

酸(Proline, Pro)和丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量,操作方法参照试剂盒使用说明书,试剂盒均购自索莱宝科技有限公司(中国,北京)。上述各项指标的测定,均至少重复 3 次,以保证试验数据的可靠性与结果的准确性。

表 1 供试材料基本信息

Table 1 The basic information of tested materials

材料编号 Material number	来源地 Origin	经纬度 Longitude and latitude	海拔 Altitude/m
M ₁	巴里坤县 Balikun County	43°39'18"N, 93°05'27"E	1635
M ₂	巴里坤县 Balikun County	43°38'52"N, 93°06'15"E	1680
M ₃	巴里坤县 Balikun County	43°39'55"N, 93°04'40"E	1720
M ₄	阿格喜沃巴村 Agexiwoba Village	43°39'30"N, 93°05'50"E	1655
M ₅	阿格喜沃巴村 Agexiwoba Village	43°39'10"N, 93°05'35"E	1642
M ₆	伊吾县 Yiwu County	43°22'43"N, 94°31'12"E	1123
M ₇	伊吾县 Yiwu County	43°23'15"N, 94°30'45"E	1089
M ₈	特克斯县 Tekesi County	42°48'03"N, 81°55'18"E	1215
M ₉	特克斯县 Tekesi County	42°47'45"N, 81°54'30"E	1230
M ₁₀	巴里坤县 Balikun County	43°39'00"N, 93°05'30"E	1668
M ₁₁	尼勒克县 Nileke County	43°41'32"N, 82°55'40"E	1345
M ₁₂	尼勒克县 Nileke County	43°41'10"N, 82°56'05"E	1312
M ₁₃	玛纳斯县 Manasi County	43°54'36"N, 86°10'12"E	523
M ₁₄	巴里坤县 Balikun County	43°38'30"N, 93°06'30"E	1610
M ₁₅	玛纳斯县 Manasi County	43°55'00"N, 86°09'30"E	505
M ₁₆	巴里坤县 Balikun County	43°39'45"N, 93°04'50"E	1702
M ₁₇	奇台县 Qitai County	43°58'12"N, 90°01'48"E	735
M ₁₈	奇台县 Qitai County	43°57'45"N, 90°02'15"E	712
M ₁₉	奇台县 Qitai County	43°58'30"N, 90°01'30"E	748
M ₂₀	玛纳斯县 Manasi County	43°54'00"N, 86°10'45"E	535

1.4 综合评价

使用主成分分析方法进行耐寒性评价指标筛选;采用模糊数学中隶属函数法进行黄花苜蓿耐寒性综合评价^[15]。

为减少材料间指标性状固有性差异,试验各指标均使用胁迫指数来进行分析。

胁迫指数=处理组植株的测定值/对照组植株的测定值。

正向隶属函数计算公式:

$$R(X_{ij}) = \frac{(X_{ij} - X_{jmin})}{(X_{jmax} - X_{jmin})} \quad (1)$$

反向隶属函数计算公式:

$$R(X_{ij}) = 1 - \frac{(X_{ij} - X_{jmin})}{(X_{jmax} - X_{jmin})} \quad (2)$$

标准差系数:

$$V_j = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X_{ij} - X_j)^2}}{X_j} \quad (3)$$

权重系数:

$$W_j = \frac{V_j}{\sum_{j=1}^m V_j} \quad (4)$$

综合评价 D 值:

$$D = \sum_{j=1}^m [R(X_{ij}) \times W_j] \quad (5)$$

在计算公式中, $R(X_{ij})$ 是指第 i 个具体种质在第 j 个评价指标上的隶属度数值。 X_{jmin} 和 X_{jmax} 是参与试验的所有种质中,第 j 个指标表现出的最低值和最高值。 X_j 表示在第 j 个评价指标上所有种质的平均值。 V_j 用于表示第 j 个指标的标准差系数, W_j 是对应于第 j 个指标的权重系数。在这种综合评估模式中, D 值越大,表明该黄花苜蓿种质抗寒性越强。

1.5 数据分析

数据均采用 Microsoft Excel 2010 软件进行整理,通过联川生物云平台(<https://www.omicstudio.cn/tool>)进行相关性分析。使用 SPSS 27.0 软件进行统计分析、主成分分析、逐步回归分析和聚类分

析,用GraphPad Prism 9.5.1软件进行图形绘制。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫对丙二醛、可溶性糖和脯氨酸含量的影响

2.1.1 低温胁迫对丙二醛含量的影响 随着低温胁迫加剧,20份黄花苜蓿种质叶片丙二醛(MDA)含量呈上升趋势(图1)。与25℃对照相比,温度降

至10℃时, $M_5, M_8, M_9, M_{11}, M_{13}, M_{17}, M_{19}$ 的MDA含量显著升高($P < 0.05$),其他种质的MDA含量均无显著升高,且增长较为平缓。与25℃对照相比,当温度降至5℃时,除 M_1, M_2, M_6, M_{16} 的MDA含量无显著升高外,其他种质的MDA含量均显著升高($P < 0.05$)。当温度降至0℃时,所有种质的MDA含量均显著高于25℃对照($P < 0.05$),胁迫指数在1.42~3.10之间,其中种质 M_5 的MDA含量增幅最大, M_{17} 的增幅最小。

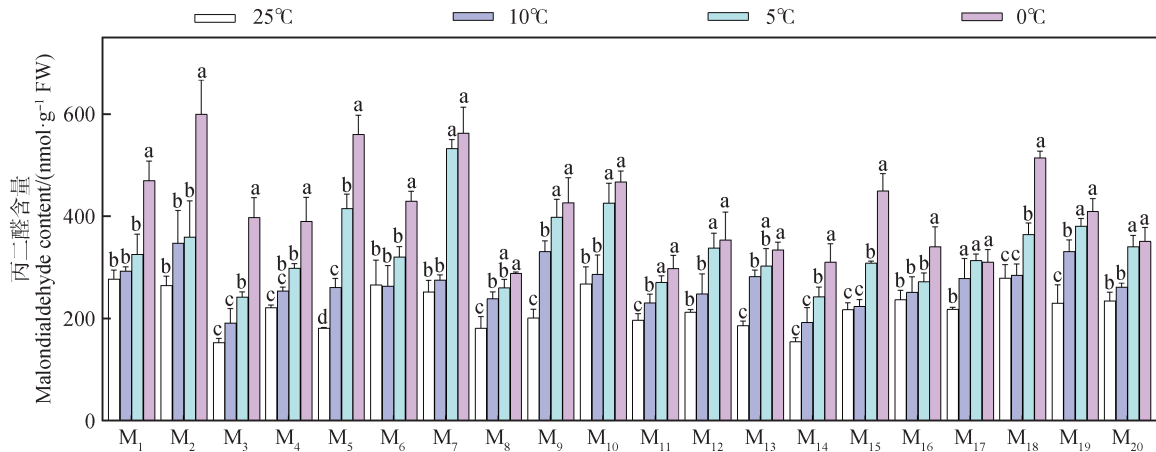


图1 低温胁迫下黄花苜蓿种质丙二醛含量

Fig. 1 Malondialdehyde contents in *Medicago falcata* germplasm under low temperature stress

注:数据以平均值±标准差(SD)表示,不同小写字母标注的柱形,代表相同种质在不同温度下的差异达统计学显著性($P < 0.05$),下同

Note: Data are presented as mean ± standard deviation (SD). Bars marked with different lowercase letters indicate that the differences of the same germplasm among different temperatures are statistically significant ($P < 0.05$). The same as below

2.1.2 低温胁迫对可溶性糖含量的影响 随着低温胁迫加剧,20份黄花苜蓿种质叶片可溶性糖(SS)含量呈上升趋势(图2)。与25℃对照相比,温度降至10℃时,除 $M_2, M_3, M_5, M_6, M_8, M_9, M_{13}, M_{14}, M_{17}, M_{19}, M_{20}$ 的SS含量无显著升高外,其他种质的SS含量均

显著升高($P < 0.05$),且增长较为平缓。当温度降至5℃时,所有种质的SS含量均显著高于25℃对照($P < 0.05$),呈稳步上升趋势。在0℃处理下,所有种质的SS含量持续增加,胁迫指数范围为1.60~3.62,其中 M_7 的SS含量增幅最大, M_5 的增幅最小。

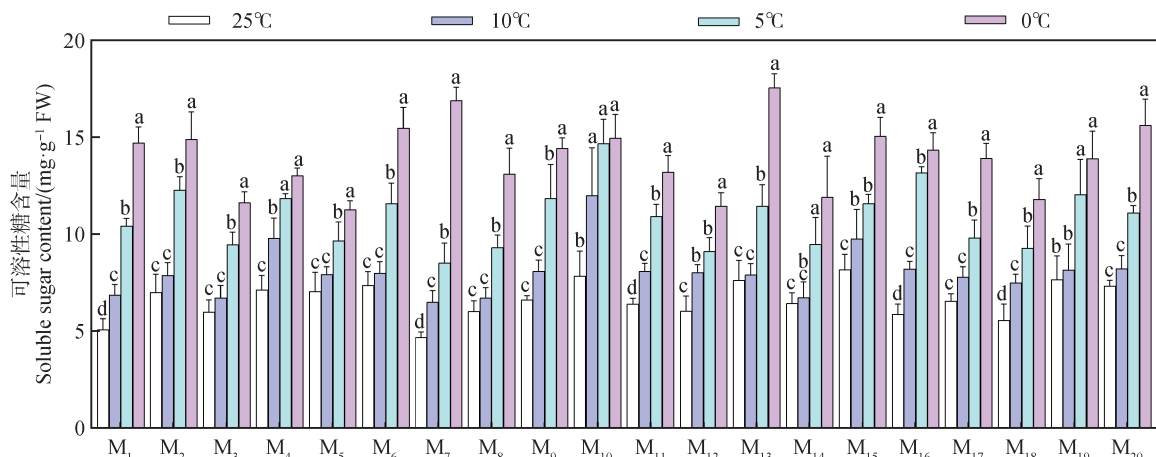


图2 低温胁迫下黄花苜蓿种质可溶性糖含量

Fig. 2 Soluble sugar contents in *Medicago falcata* germplasm under low temperature stress

2.1.3 低温胁迫对脯氨酸含量的影响 随着低温胁迫加剧,20份黄花苜蓿种质叶片脯氨酸(Pro)含量总体呈上升趋势(图3)。与25℃对照相比,温度降至10℃时, $M_1, M_2, M_4, M_6, M_9, M_{10}, M_{11}, M_{13}, M_{14}, M_{16}, M_{18}$ 的Pro含量显著升高($P < 0.05$),其他种质的Pro含量均无显著升高。与25℃对照相比,当温

度降至5℃时, $M_3, M_5, M_7, M_8, M_{12}, M_{19}, M_{20}$ 的Pro含量无显著升高,其他种质的SS含量均显著升高($P < 0.05$),呈上升趋势。温度降至0℃,所有种质的Pro含量均显著高于25℃对照($P < 0.05$),胁迫指数处于1.25~2.57之间,其中 M_1 的Pro含量增幅最大, M_{12} 的增幅最小。

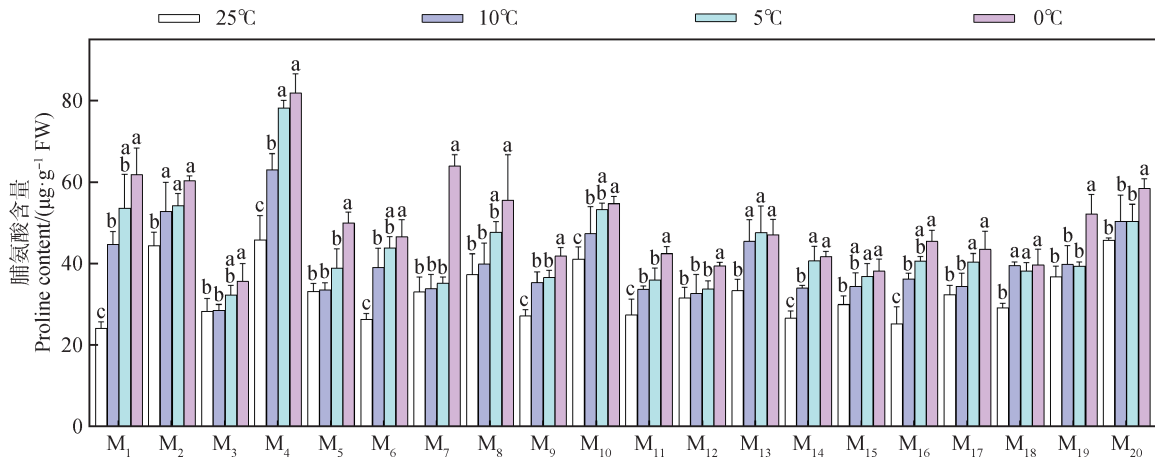


图3 低温胁迫下黄花苜蓿种质脯氨酸含量

Fig. 3 Proline contents in *Medicago falcata* germplasm under low temperature stress

2.2 低温胁迫对SPAD值和叶绿素荧光值的影响

2.2.1 低温胁迫对SPAD值的影响 随着低温胁迫加剧,20份黄花苜蓿种质叶片SPAD值总体呈下降趋势(图4)。 $M_1, M_2, M_6, M_{12}, M_{15}, M_{17}, M_{18}, M_{19}$ 等8份种质在25℃至0℃间无显著性差异。其中,

M_1, M_6, M_{13}, M_{17} 在10℃的SPAD值略高于25℃的SPAD值。在0℃处理下,其余12份种质的SPAD值与25℃对照相比差异显著($P < 0.05$),胁迫指数范围为0.63~0.98,其中 M_3 的SPAD值降幅最大, M_2 的降幅最小。

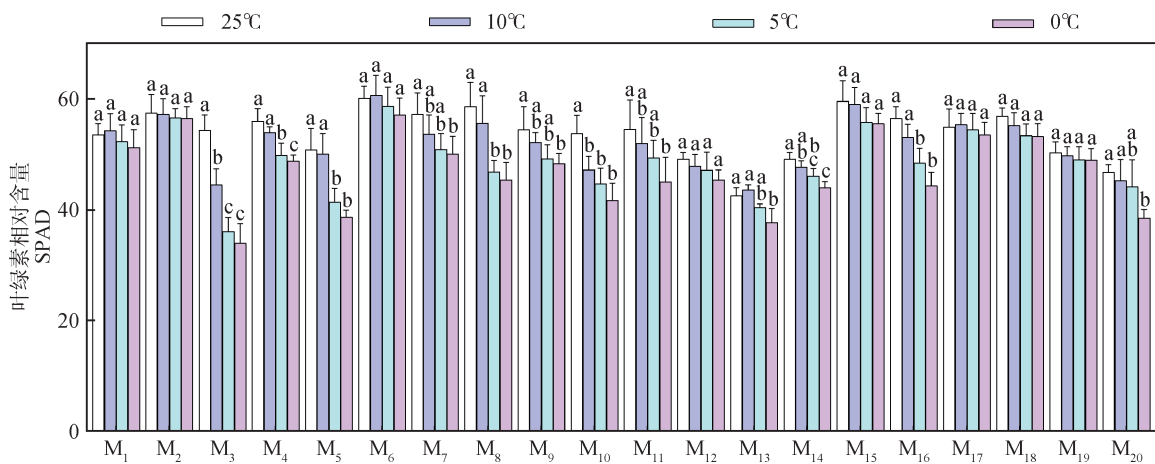


图4 低温胁迫下黄花苜蓿种质叶绿素相对含量

Fig. 4 Relative chlorophyll content of *Medicago falcata* germplasm under low temperature stress

2.2.2 低温胁迫对初始荧光的影响 随着低温胁迫加剧,20份黄花苜蓿种质叶片初始荧光(F_0)总体呈上升趋势(图5)。与25℃对照相比,当温度降至10℃时, $M_4, M_7, M_{13}, M_{15}, M_{18}, M_{20}$ 的 F_0 无显著升高,其他种质的 F_0 均显著升高($P < 0.05$)。当温度降至5℃时,所有种质的 F_0 均显著高于25℃对照($P < 0.05$),呈稳步上升趋势。在0℃处理下,所有种质

的 F_0 持续升高,胁迫指数范围为1.09~4.51,其中种质 M_{12} 的 F_0 增幅最大, M_{20} 的增幅最小。

2.2.3 低温胁迫对最大荧光的影响 随着低温胁迫加剧,20份黄花苜蓿种质叶片最大荧光(F_m)总体呈下降趋势(图6)。与25℃对照相比,当温度降至10℃时, $M_1, M_4, M_9, M_{10}, M_{11}, M_{20}$ 的 F_m 无显著降低,其他种质的 F_m 均显著降低($P < 0.05$)。当温度降至5℃时,

M_4 和 M_6 的 F_m 无显著降低,其他种质的 F_m 均显著低于25℃对照($P<0.05$)。在0℃处理下,所有种质的 F_m

均显著低于25℃对照,胁迫指数范围为0.20~0.88,其中 M_{12} 的 F_m 降幅最大, M_4 的降幅最小。

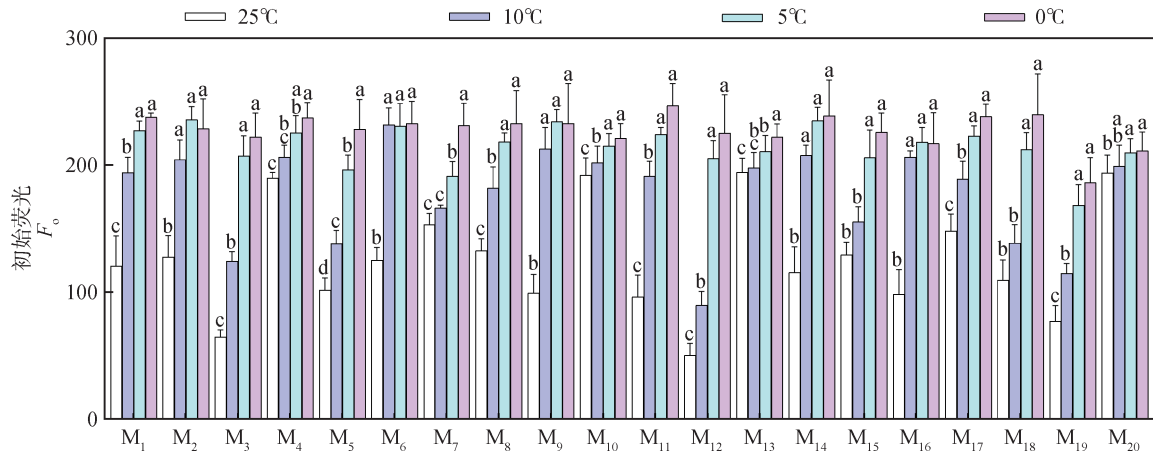


图5 低温胁迫下黄花苜蓿种质初始荧光

Fig. 5 Initial fluorescence (F_0) in *Medicago falcata* germplasm under low temperature stress

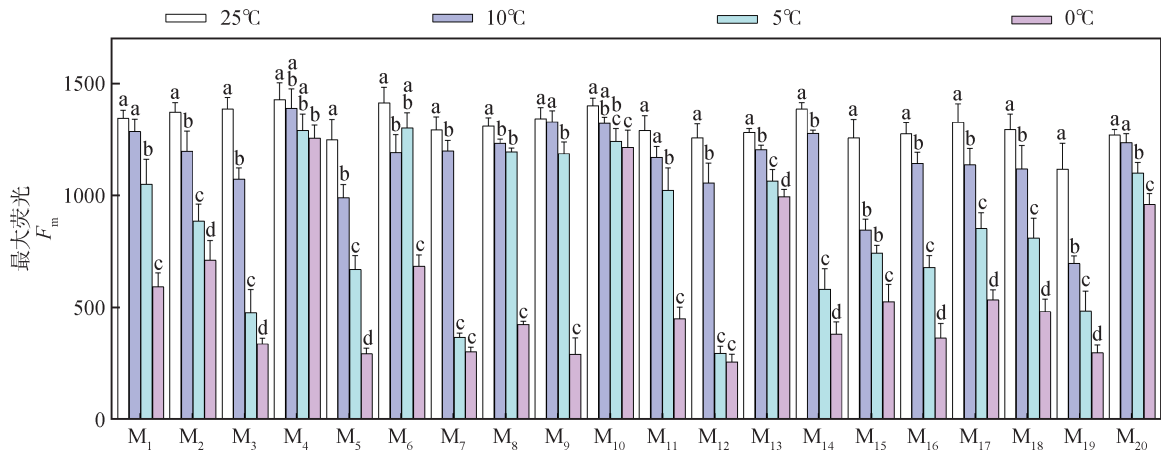


图6 低温胁迫下黄花苜蓿种质最大荧光

Fig. 6 Maximum fluorescence (F_m) in *Medicago falcata* germplasm under low temperature stress

2.2.4 低温胁迫对光系统Ⅱ的最大光化学效率的影响 随着低温胁迫加剧,20份黄花苜蓿种质叶片光系统Ⅱ的最大光化学效率(F_v/F_m)总体呈下降趋势(图

7)。与25℃对照相比,当温度降至10℃时, M_4 , M_5 , M_7 , M_8 , M_{10} , M_{11} , M_{12} , M_{13} , M_{17} , M_{18} , M_{20} 的 F_v/F_m 无显著降低,其他种质的 F_v/F_m 均显著降低($P<0.05$)。当温度

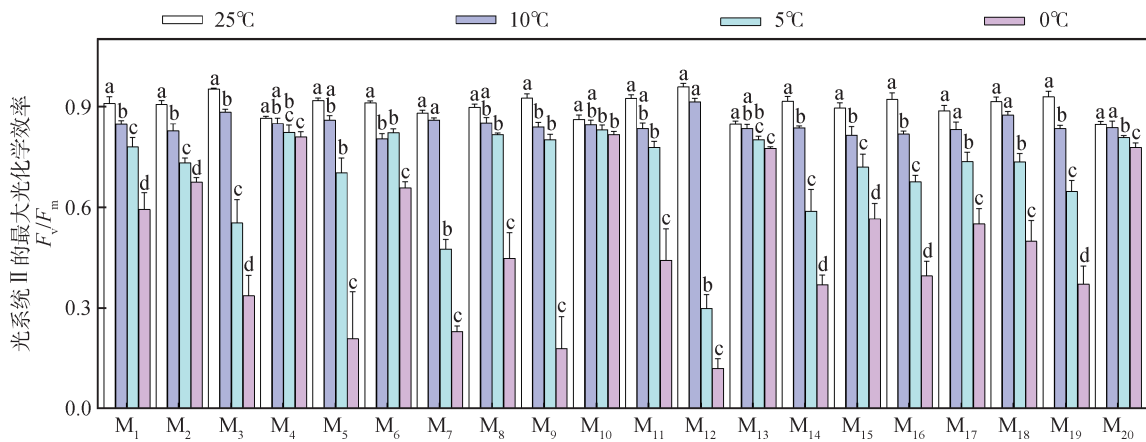


图7 低温胁迫下黄花苜蓿种质光系统Ⅱ的最大光化学效率

Fig. 7 Maximal photochemical efficiency of photosystem II (F_v/F_m) in *Medicago falcata* germplasm under low temperature stress

降至 5℃时,所有种质的 F_v/F_m 均显著低于 25℃对照 ($P<0.05$),呈稳步降低趋势。温度降至 0℃,所有种质的 F_v/F_m 持续降低,胁迫指数范围为 0.13~0.95,其中 M_{12} 的 F_v/F_m 降幅最大, M_{10} 的降幅最小。

2.3 20 份黄花苜蓿种质苗期耐寒性综合评价

2.3.1 隶属函数值及耐寒性综合评价 D 值 本研究以 MDA,SS,Pro,SPAD, F_o , F_m , F_v/F_m 这 7 个指

标作为评价依据,利用隶属函数法和标准差系数赋予权重法对 20 份黄花苜蓿材料的耐寒性进行综合评价(表 2)。20 份黄花苜蓿材料的 D 值在 0.171~0.796 之间,其中 M_4 的综合评价价值最高,为 0.796; M_{12} 的综合评价价值最低,为 0.171。根据综合评价 D 值,20 份黄花苜蓿材料的耐寒性排序结果如下: $M_4 > M_1 > M_{10} > M_{20} > M_{13} > M_6 > M_{17} > M_8 > M_2 > M_{18} > M_{16} > M_7 > M_{15} > M_{11} > M_9 > M_{14} > M_{19} > M_5 > M_3 > M_{12}$ 。

表 2 隶属函数值及耐寒性综合评价 D 值

Table 2 Presents the membership function values and the comprehensive evaluation index D for cold tolerance

材料 Material	丙二醛 Malondialdehyde	可溶性糖 Soluble sugar	脯氨酸 Proline	叶绿素相对含量 SPAD	初始荧光 F_o	最大荧光 F_m	光系统Ⅱ的最 大光化学效率 F_v/F_m	D 值 D value	排序 Rank
M_4	0.806	0.283	0.461	0.711	0.955	1.000	0.982	0.796	1
M_1	0.913	0.812	1.000	0.968	0.685	0.608	0.701	0.776	2
M_{10}	0.760	0.447	0.128	0.432	0.988	0.960	1.000	0.747	3
M_{20}	0.869	0.248	0.038	0.719	1.000	0.890	0.980	0.733	4
M_{13}	0.596	0.274	0.255	0.869	0.994	0.857	0.968	0.731	5
M_6	0.947	0.245	0.473	0.952	0.672	0.655	0.743	0.659	6
M_{17}	0.846	0.265	0.092	1.000	0.834	0.422	0.663	0.585	7
M_8	0.779	0.278	0.146	0.476	0.782	0.608	0.642	0.572	8
M_2	0.594	0.337	0.128	0.985	0.717	0.511	0.716	0.559	9
M_{18}	0.838	0.385	0.203	0.849	0.694	0.394	0.609	0.555	10
M_{16}	1.000	0.737	0.453	0.549	0.538	0.293	0.440	0.548	11
M_7	0.436	1.000	0.203	0.682	0.909	0.111	0.257	0.513	12
M_{15}	0.725	0.130	0.091	0.864	0.814	0.270	0.634	0.512	13
M_{11}	0.869	0.347	0.222	0.666	0.490	0.519	0.554	0.510	14
M_9	0.343	0.408	0.252	0.737	0.494	0.549	0.383	0.441	15
M_{14}	0.637	0.104	0.305	0.801	0.624	0.227	0.377	0.433	16
M_{19}	0.614	0.130	0.066	0.954	0.598	0.030	0.401	0.369	17
M_5	0.000	0.000	0.103	0.521	0.676	0.192	0.360	0.301	18
M_3	0.444	0.203	0.016	0.000	0.255	0.055	0.313	0.197	19
M_{12}	0.758	0.238	0.000	0.862	0.000	0.000	0.000	0.171	20

2.3.2 主成分分析 对 7 个评价指标的胁迫指数进行主成分分析,得到因子载荷、贡献率和累积贡献率(表 3)。前 4 个主成分累计贡献率达到了 89.907%,能够有效地反映 7 个评价指标的绝大部

分信息,可作为评价 20 份黄花苜蓿种质抗寒性的综合指标。选 4 个主成分(F_v/F_m ,SS,SPAD,MDA)中的最大特征向量作为 20 份黄花苜蓿种质抗寒性筛选与评价的关键指标。

表 3 4 个主成分的因子载荷、方差贡献率、累计贡献率

Table 3 Factor loadings, variance contribution rates, cumulative contribution rates for the four principal components

测定指标 Index	因子载荷 Factor loading			
	PC1	PC2	PC3	PC4
丙二醛 Malondialdehyde	-0.566	-0.404	0.305	0.588
可溶性糖 Soluble sugar	0.273	0.71	0.512	0.185
脯氨酸 Proline	0.522	0.669	0.129	0.078
叶绿素相对含量 SPAD	0.334	0.301	-0.782	0.415
初始荧光 F_o	-0.772	0.365	-0.148	-0.385
最大荧光 F_m	0.885	-0.282	0.116	-0.133
光系统Ⅱ的最大光化学效率 F_v/F_m	0.910	-0.374	0.011	-0.084
贡献率 Contribution rate/%	42.655	22.256	14.55	10.446
累积贡献率 Cumulative contribution rate/%	42.655	64.911	79.461	89.907

2.3.3 相关性分析 对 7 个评价指标的胁迫指数和综合评价 D 值进行相关性分析(图 8)。结果显示, F_o 与 F_m 、 F_v/F_m 和 D 值之间均存在极显著的负相关性,相关系数分别为 -0.66 、 -0.79 和 -0.80 ($P<0.01$)。 F_m 与 F_v/F_m 和 D 值之间均存在极其显著的正相关性,相关系数分别为 0.91 和 0.87 ($P<0.001$)。 F_v/F_m 和 D 值之间均存在极其显著的正相关性,相关系数为 0.89 ($P<0.001$)。D 值和 MDA 含量之间存在显著的负相关性,相关系数为 -0.53 ($P<0.05$)。D 值和 Pro 含量之间存在显著的正相关性($P<0.05$),SS 含量与 Pro 含量存在显著的正相关性,相关系数均为 0.52 ($P<0.05$)。

2.3.4 逐步回归分析 为进一步验证筛选黄花苜蓿耐寒性评价的关键指标,本研究采用逐步回归分析(表 4),基于所测定的 20 份黄花苜蓿的 MDA,SS,Pro,SPAD, F_o , F_m , F_v/F_m 的胁迫指数(自变量)及其综合评价 D 值(因变量)构建耐寒性评价模型。相关性分析显示,Pro 与 SS,MDA 与 F_o 存在显著共线性(图 8),而 F_v/F_m ($VIF=1.001$)和 SS($VIF=1.001$)独立性良好(表 4),且二者与 D 值的相关系数分别达 0.89 和 0.75 ($P<0.001$),标准化回归系数分别为 0.906 和 0.368 (t 值均 >5 , $P<0.001$)(表 4)。通过逐步回归算法筛选出最优回归方程:综合评价值(D) $=-0.866+1.194\times F_v/F_m+0.296\times SS$,该方程 $R^2=0.932$, $P<0.001$,表明 D 值与 F_v/F_m 和 SS 存在极显著线性关系,且模型拟合优度未因

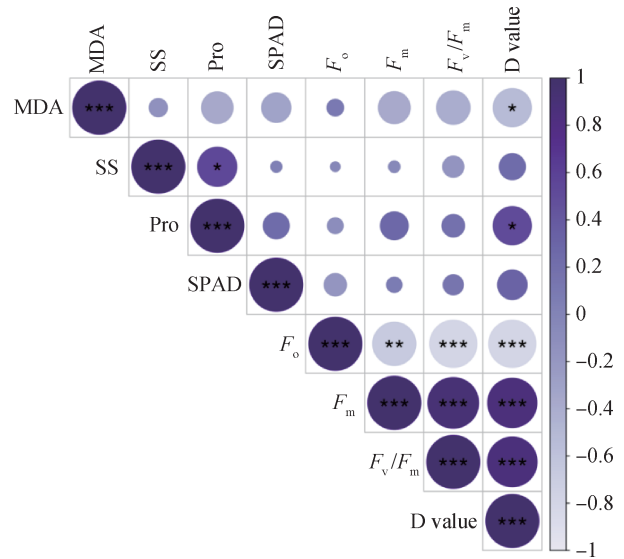


图 8 低温胁迫下黄花苜蓿各指标的相关性分析
Fig. 8 Correlation analysis of physiological and photosynthetic indices in *Medicago falcata* germplasm under low temperature stress

注:*, **, ***分别表示在 $P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$ 水平差异显著
Note: *, **, and *** indicate statistically significant differences at $P<0.05$, $P<0.01$, and $P<0.001$ levels, respectively

新增其他指标显著提升,符合统计简约性原则。从生理机制看, F_v/F_m 直接反映光合系统稳定性,响应早于 MDA 等结果性指标,SS 作为渗透调节核心物质积累更具普遍性,因此二者可作为评价黄花苜蓿耐寒性的关键指标。

表 4 逐步线性回归分析

Table 4 Stepwise linear regression analysis ($n=20$, 7 indicators)

项目 Item	非标准化系数 Non-normalized coefficient		标准化系数 Standardization coefficient	t	P 值 P value	多重共线性 严重程度 VIF	曲线回归的 拟合程度 R^2	调整 R^2	F 检验 F-test
	系数 Coefficient	标准误差 Standard error							
常量 Constant	-0.866	0.108	0.000	-7.991	0.000**	—	0.932	0.924	$F=33.968, P=0.000^{**}$
光系统 II 的最大光化学效率 F_v/F_m	1.194	0.083	0.906	14.362	0.000**	1.001			
可溶性糖 Soluble sugar	0.296	0.051	0.368	5.828	0.000**	1.001			

2.3.5 聚类分析 以耐寒性综合评价 D 值为基础,使用系统聚类中基于欧式平方距离的组间连接法^[19]对 20 份黄花苜蓿种质资源耐寒性进行聚类分析(图 9)。当设定聚类阈值为 3.0 时,样本材料可划分为四个耐寒等级(表 5)。其中,第一类群包含 6 个样本(占总样本 30%),其综合评估 D 值介于 $0.659\sim0.796$ 之间,为强耐寒型种质;第二

类群涵盖 8 个样本(占 40%),D 值范围 $0.510\sim0.658$,为中等耐寒型;第三类群的 4 个样本(20%)D 值在 $0.301\sim0.509$ 之间,为弱耐寒型;第四类群仅含 2 个样本(10%),D 值 $0.171\sim0.300$,为极端低温敏感型材料。通过综合评价和系统聚类,明确了不同种质资源的耐寒能力梯度分布特征。

表 5 对 20 份黄花苜蓿种质耐寒性分级结果

Table 5 The classification results of cold tolerance for 20 *Medicago falcata* germplasms

类别 Grade	数量 Amount	材料编号 Material number	D 值 D value	耐寒性 Cold tolerance
I	6	M ₄ , M ₁ , M ₁₀ , M ₂₀ , M ₁₃ , M ₆	>0.659	强 Strong
II	8	M ₁₇ , M ₈ , M ₂ , M ₁₈ , M ₁₆ , M ₇ , M ₁₅ , M ₁₁	>0.510	中等 Moderate
III	4	M ₉ , M ₁₄ , M ₁₉ , M ₅	>0.301	弱 Weak
IV	2	M ₃ , M ₁₂	>0.171	极弱 Extremely weak

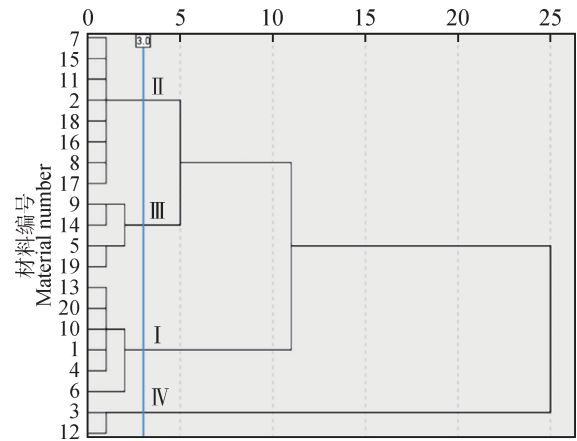


图 9 基于 D 值的 20 份黄花苜蓿种质耐寒性系统聚类

Fig. 9 The hierarchical clustering of cold tolerance system for 20 *Medicago falcata* germplasms based on the comprehensive evaluation index D

3 讨论

3.1 低温胁迫下膜损伤与渗透调节物质的响应

低温胁迫使细胞膜脂质过氧化程度加深,MDA 是膜质过氧化的最终分解产物,MDA 含量增多,表明植物受伤害越严重^[20]。本研究中,20 份黄花苜蓿种质的 MDA 含量随着温度降低呈现上升趋势。随着温度的不断降低,不同材料 MDA 含量变化幅度有所差异(图 1),因其材料自身遗传特性不同导致增幅不同^[21]。MDA 含量均在 0℃达到最大值,表明温度越低受伤害程度越大。本研究发现,在低温下,M₅和 M₃的 MDA 含量增幅较大,受伤害程度更高,表明抗寒性较差。这与隶属函数综合评价结果一致。黄花苜蓿在低温胁迫下的膜损伤程度显著低于紫花苜蓿^[17,22],其抗寒机制与独特的分子调控网络密切相关。Cui 等^[23]研究表明,黄花苜蓿在 0℃低温胁迫下,超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性显著增强,其转录组分析显示抗氧化酶相关基因表达上调,通过提升活性氧(Reactive oxygen species,ROS)清除能力减轻膜脂过氧化损伤。Yang 等^[24]进一步发现,黄花苜蓿特有的 *MfAOC2* 基因(茉莉酸合成酶)通过激活茉莉酸

(Jasmonic acid, JA)信号通路,协同上调 CBF 转录因子家族基因及抗氧化酶基因的表达,显著提升低温下活性氧清除能力与脯氨酸积累,从而增强耐寒性。

在低温胁迫条件下,植物通过积累可溶性糖(SS)、脯氨酸(Pro)和可溶性蛋白等渗透调节物质维持细胞内渗透平衡,以增强抗寒能力^[25]。本研究观察到,随温度降低 20 份黄花苜蓿种质的 SS 和 Pro 含量均呈上升趋势,但上升幅度在各种质间存在差异(图 1)。这与李佳奇等^[26]和王敏等^[12]对苜蓿的研究结果一致,进一步证实了低温胁迫下 SS 和 Pro 充当保护剂,通过调控细胞质膜内外渗透势差维持水分稳态,从而增强苜蓿对低温环境的适应能力。0℃时,M₁₃与 M₇的 SS 含量以及 M₄与 M₁的 Pro 含量较高,能提升细胞保水能力来维持体内的渗透平衡,由此推断其抗寒性较强;而 M₅与 M₁₂的 SS 含量以及 M₃和 M₁₂的 Pro 含量低,抗寒性弱。该结果与隶属函数综合评价基本一致。王敏等^[12]和陈卫东等^[18]研究也表明,在低温胁迫下,耐寒性较强的苜蓿种质会积累更多的 SS 和 Pro,以增强自身的耐寒能力,从而有效缓解低温对植物造成的损害。这一结果与黄花苜蓿特有的渗透调节机制密切相关:黄花苜蓿不仅通过积累更高水平的 SS 和 Pro 维持渗透平衡,还能合成棉籽糖和水苏糖,进一步降低冰晶对膜的损伤^[27]。相比之下,紫花苜蓿在低温下仅依赖蔗糖和果糖的积累,缺乏合成棉籽糖的能力,导致其膜稳定性较弱^[28]。Zhuo 等^[29]对黄花苜蓿 *MfERF1* 的研究表明,该转录因子通过上调多胺氧化酶(Polyamine oxidase,PAO)活性促进多胺周转,同时抑制脯氨酸氧化酶(Proline oxidase 2,PROX2)表达,双重机制维持 Pro 含量,赋予植物更强的耐寒性。此外,黄花苜蓿(如锡盟黄花苜蓿)的根系结构在深层土壤中分布更广,增强了对水分和营养吸收能力,进一步提升了其抗寒适应性^[30]。

3.2 低温胁迫下 SPAD 与叶绿素荧光值的响应

叶绿素的生物合成依赖一系列酶促反应,温度

过高或过低,会抑制酶促反应,甚至破坏已有的叶绿素结构^[31]。马亚珩等^[32]研究表明低温胁迫下,‘青大1号’紫花苜蓿叶绿素的含量明显降低,证实了低温会使叶片叶绿素降解。冉卓^[33]以12个不同品种的紫花苜蓿为材料,分别在25℃,20℃,15℃,10℃,5℃,0℃的人工培养箱进行低温胁迫,结果表明,低温处理下不同品种的紫花苜蓿的叶绿素含量随着温度降低呈现出不同的变化趋势和变化幅度,这与本实验研究结果基本一致(图2)。其中,部分品种叶绿素含量随温度降低无显著变化,可能是其叶绿素合成酶耐低温能力强,品种抗寒性更优^[34];部分品种叶绿素含量持续下降,体现出低温对叶绿素的降解作用^[13];还有部分品种叶绿素含量总体呈“升-降”趋势,这可能是因为植株在耐受阈值内,通过增加叶绿素合成适应低温、强化光合作用^[35]。叶绿素含量呈现多种变化趋势,与材料自身特性及胁迫温度相关,不同材料对低温胁迫的耐受阈值存在差异。较高的叶绿素含量能促进光合作用,增强植物对低温的抵抗力。有研究表明抗寒能力较强的品种,其叶绿素含量下降幅度会低于抗寒能力较弱的品种^[36]。本研究中M₃和M₅的SPAD下降幅度较大,表明其耐寒性较弱,与综合评价结果一致。

低温胁迫会对植物光合系统造成伤害,且这种伤害最终会体现在各叶绿素荧光参数的变化上^[37]。研究表明,逆境胁迫下,植物初始荧光(F_0)、最大荧光(F_m)和最大光化学效率(F_v/F_m)等参数,是评价逆境对植物光合系统的影响程度以及植物自身耐性表现的重要指标^[38]。陈世茹等^[39]对紫花苜蓿进行低温胁迫,发现叶片 F_0 上升, F_m 和 F_v/F_m 降低。许耀照等^[40]研究发现,随温度降低白菜型冬油菜(*Brassica rapa*)的 F_0 呈上升趋势, F_m 和 F_v/F_m 均呈下降趋势。本实验与前人研究结论一致,且变化幅度随温度下降而变得更加明显(图3)。M₁₂的 F_0 增幅最大, F_m 和 F_v/F_m 降幅最大,表明其因PSII反应中心大量失活(F_0 异常升高致激发能耗散受阻)、类囊体膜损伤(F_m 降低反映QA→QB电子传递中断)及原初光能转化能力崩溃(F_v/F_m 骤降至小于0.7),三者协同引发PSII核心复合体不可逆解离,导致其光抑制最深、抗寒性最弱。相反,M₂₀,M₄,M₁₀变化幅度较小,其光合机构受损较轻,抗寒性较强。这些结果与综合评价结果一致,与郑锋等^[41]对沿阶草族种质的研究结果一致,证实了不同植物材料在低温胁迫下的光合反应机制存在显著差异。抗寒性

强的种质在低温胁迫下能够更有效地维持光合系统功能,从而减轻低温对植物产生的伤害。抗寒种质M₂₀和M₄的荧光参数变化幅度较小,其光合系统稳定性可能与黄花苜蓿特有的转录后调控机制相关;Shi等^[42]通过蛋白质组分析发现,M/EF2过表达可诱导剪接体通路基因上调,促进前mRNA可变剪接,同时下调LHC亚基蛋白水平,从而减少光能过度捕获和ROS生成。尽管本实验未直接检测剪接效率或LHC蛋白丰度,但结果提示黄花苜蓿可能通过类似机制维持低温下的光合功能。

3.3 黄花苜蓿耐寒性综合评价

耐寒性是受多机制调控的综合性状,不同种质在抵御低温逆境时可能存在差异化的生理响应策略,因此基于单一指标的耐寒性评价体系具有一定局限性^[11,43]。基于多指标综合评价体系的耐寒性鉴定方法,能够系统量化和多维度解析种质间耐寒性的遗传分化特征^[12,34]。该评价方法通过整合形态学、生理学及分子生物学等多层面指标,可显著提升植物抗寒能力评估的全面性与精准度。基于隶属函数-标准差系数赋权法(D值综合评价法)对指标数据进行标准化处理,通过整合权重分配,实现综合评价结果的客观量化^[13,15]。马彪等^[13]运用D值综合评价法对30份苜蓿种质进行耐寒性评价,筛选出4份耐低温性好的种质,用于苜蓿耐低温新品种选育研究。本研究选取与膜损伤、渗透调节、叶绿素和叶绿素荧光相关的7个生理生化指标,采用D值综合评价法对20份黄花苜蓿种质进行耐寒性综合评价(表2)。评价结果表明M₁和M₄具有较强的耐寒性,而M₃,M₅,M₁₂的耐寒性较弱。筛选的种质,仍需通过晚秋或早春田间播种试验进行耐寒性表型验证。

主成分分析(表3)显示, F_v/F_m ,SS,SPAD,MDA可作为耐寒性评价的核心指标。通过进一步的逐步回归分析(表4)优化筛选,最终确定 F_v/F_m 和SS为最具代表性的关键评价指标。这两项指标不仅与耐寒性D值存在显著相关性($P<0.05$)(图8),且在耐寒性强弱种质间表现出显著差异特征。本研究苜蓿耐寒性评价的关键指标与前人研究存在差异^[12],这种差异主要归因于植物种类、样本材料、实验条件及测定指标等影响因素的综合作用。尽管研究对象和具体指标存在差异,但其整体评价方法及筛选出的关键指标仍具有相似性和合理性。

本研究初步揭示了黄花苜蓿种质低温胁迫下的生理响应特征,但对其细胞膜稳定性、抗氧化酶活性动态及关键抗寒基因调控网络仍有待解析。后续需结合代谢-转录组学分析,揭示调控低温防御的核心分子机制,为抗寒种质筛选及分子育种提供理论依据。

4 结论

随温度降低,20份黄花苜蓿的MDA,SS,Pro, F_o 呈上升趋势,在 0°C 均显著增加;SPAD, F_m , F_v/F_m 总体呈下降趋势。隶属函数评价结果显示耐寒能力为 $M_4 > M_1 > M_{10} > M_{20} > M_{13} > M_6 > M_{17} > M_8 > M_2 > M_{18} > M_{16} > M_7 > M_{15} > M_{11} > M_9 > M_{14} > M_{19} > M_5 > M_3 > M_{12}$ 。逐步回归分析构建了耐寒性评价模型($R^2=0.932$),表明 F_v/F_m 和SS为关键评价指标。耐寒性强的种质在低温下通过积累SS和Pro维持渗透平衡,并保持较高的 F_v/F_m 以稳定光合功能。

参考文献

- [1] 李子涵,李建运,王飞,等. 植物对低温胁迫反应机制的研究进展[J]. 农业与技术,2024,44(7):134-138
LI Z H, LI J Y, WANG F, et al. Research progress on the response mechanism of plants to low-temperature stress [J]. Agriculture and Technology, 2024, 44(7): 134-138
- [2] HASEGAWA T, SAKURAI G, FUJIMORI S, et al. Extreme climate events increase risk of global food insecurity and adaptation needs[J]. Nature Food, 2021, 2(8): 587-595
- [3] 苏力合,张凡凡,王旭哲,等. 积雪覆盖对不同秋眠型紫花苜蓿产草量及营养品质的影响[J]. 草地学报, 2021, 29(2): 356-363
SU L H, ZHANG F F, WANG X Z, et al. Effects of snow cover on the yield and nutritional quality of alfalfa with different fall-dormancy levels [J]. Acta Agrestia Sinica, 2021, 29(2): 356-363
- [4] 丁小琴,刘佰强,王金涛,等. 32种紫花苜蓿生产性能比较研究[J]. 饲料研究,2022,45(18):109-113
DING X Q, LIU B Q, WANG J T, et al. Comparative study on production performance of 32 alfalfa species [J]. Feed Research, 2022, 45(18): 109-113
- [5] 包凤轩,陈宁,王楠,等. 基于隶属函数法鉴定抗寒苜蓿种质苗期耐苏打盐碱性[J]. 草地学报,2024,32(12):3827-3835
BAO F X, CHEN N, WANG N, et al. Identification of soda saline-alkali tolerance of cold-resistant alfalfa germplasm at seedling stage based on the membership function method [J]. Acta Agrestia Sinica, 2024, 32(12): 3827-3835
- [6] 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): 29-32
FENG C J, LUO X Y, SHA W, et al. Effect of low temperature stress on SOD, POD activity and proline content of alfalfa [J]. Pratacultural Science, 2005, 22(6): 29-32
- [7] 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[J]. 草业科学,2021,38(4):683-692
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 [J]. Pratacultural Science, 2021, 38(4): 683-692
- [8] 南丽丽,师尚礼,陈建纲,等. 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
NAN L L, SHI S L, CHEN J G, et al. Field evaluation of the response and resistance to low temperature of alfalfa root with different root types during over-wintering [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2011, 19(3): 619-625
- [9] 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
MA Z W, BI Y X, LU X S, et al. The effective physiological response and index thresholds of *Medicago sativa* to low temperature [J]. Grassland and Turf, 2016, 36(6): 60-67
- [10] ZHOU Q, LUO D, CHAI X T, et al. Multiple regulatory networks are activated during cold stress in *Medicago sativa* L [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(10): 3169
- [11] 王晓龙,杨翌,来永才,等. 8个苜蓿品种对低温胁迫的生理响应及抗寒性评价[J]. 中国草地学报,2023,45(8):60-69
WANG X L, YANG Z, LAI Y C, et al. Physiological response and cold resistance evaluation of eight alfalfa varieties to low temperature stress [J]. Chinese Journal of Grassland, 2023, 45(8): 60-69
- [12] 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[J]. 草业学报,2024,33(6):76-88
WANG M, LI L, JIA R, et al. Evaluation of physiological characteristics and cold resistance of 10 alfalfa varieties under low temperature stress [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2024, 33(6): 76-88
- [13] 马彪,南丽丽,汪堃,等. 30份苜蓿种质材料对低温胁迫的生理响应及其耐寒性评价[J]. 草原与草坪, 2024, 44(6): 170-180
MA B, NAN L L, WANG K, et al. Physiological response and cold tolerance evaluation of 30 alfalfa germplasm to low temperature stress [J]. Grassland and Turf, 2024, 44(6): 170-180
- [14] 李倩,若扎·扎汗汗,李陈建,等. 36份新疆野生黄花苜蓿SSR水平的差异性研究[J]. 中国草地学报,2021,43(2):1-7
LI Q, Ruozha·Zhaerhan, LI C J, et al. Genetic diversity of 36 *Medicago falcata* populations in Xinjiang based on SSR analysis [J]. Chinese Journal of Grassland, 2021, 43(2): 1-7
- [15] 李贺洋,黄悠,陈超超,等. 黄花苜蓿种质资源苗期抗旱性鉴定评价[J]. 中国草地学报,2023,45(10):34-45
LI H Y, HUANG Y, CHEN C C, et al. Evaluation of drought resistance in seedling stage germplasm resources of *Medicago*

- falcata*[J]. Chinese Journal of Grassland, 2023, 45 (10): 34-45
- [16] 孙昊, 张玉霞, 陈卫东, 等. 苜蓿抗寒性指标筛选及综合评价[J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版), 2022, 37(5): 396-401, 445
SUN H, ZHANG Y X, CHEN W D, et al. Screening and comprehensive evaluation of cold tolerance indexes of alfalfa species[J]. Journal of Inner Mongolia Minzu University (Natural Sciences), 2022, 37(5): 396-401, 445
- [17] 王明莹. 不同品种苜蓿对低温胁迫的生理响应及抗寒性评价[J]. 呼伦贝尔学院学报, 2022, 30(3): 84-88, 128
WANG M Y. Research on the cold resistance of different alfalfa varieties to low temperature stress[J]. Journal of Hulunbuir University, 2022, 30(3): 84-88, 128
- [18] 陈卫东, 张玉霞, 丛百明, 等. 低温胁迫对不同苜蓿品种生理特性的影响[J]. 中国草地学报, 2021, 43(7): 115-120
CHEN W D, ZHANG Y X, CONG B M, et al. Effects of cold stress on different alfalfa varieties' physiological characteristics [J]. Chinese Journal of Grassland, 2021, 43(7): 115-120
- [19] 袁嘉苗, 李陈建, 曾怡, 等. 19 份无芒雀麦种质萌发期的耐盐性评价[J]. 草地学报, 2025, 33(2): 524-534
YUAN J M, LI C J, ZENG Y, et al. Evaluation of salt tolerance of 19 germplasm of *Bromus inermis* at germination stage [J]. Acta Agrestia Sinica, 2025, 33(2): 524-534
- [20] 赵孟良, 郭怡婷, 孙世英, 等. 低温胁迫下 4 种菊芋的耐寒性评价[J]. 植物生理学报, 2020, 56(7): 1419-1431
ZHAO M L, GUO Y T, SUN S Y, et al. Evaluation of cold resistance of four Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) under low temperature stress [J]. Plant Physiology Journal, 2020, 56(7): 1419-1431
- [21] 袁方, 苏卫国, 张振玲. 不同无花果品种抗寒性的测定[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(14): 4183-4184, 4285
YUAN F, SU W G, ZHANG Z L. Determination of cold tolerance of different varieties of figs [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2014, 42(14): 4183-4184, 4285
- [22] WANG Q, WU J Z, DI G L, et al. Identification of cold tolerance transcriptional regulatory genes in seedlings of *Medicago sativa* L. and *Medicago falcata* L [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(19): 10345
- [23] CUI G W, CHAI H, YIN H, et al. Full-length transcriptome sequencing reveals the low-temperature-tolerance mechanism of *Medicago falcata* roots [J]. BMC Plant Biology, 2019, 19 (1): 575
- [24] YANG L, SUN Q G, GENG B H, et al. Jasmonate biosynthesis enzyme allene oxide cyclase 2 mediates cold tolerance and pathogen resistance [J]. Plant Physiology, 2023, 193(2): 1621-1634
- [25] 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[J]. 中国农业大学学报, 2023, 28(2): 14-22
QUAN W, XUE W T, ZHAO T Y, et al. A review on the response mechanism of plant to low temperature stress [J]. Journal of China Agricultural University, 2023, 28(2): 14-22
- [26] 李佳奇, 刘晓静, 运向凯, 等. 不同生长时期的紫花苜蓿对低温的响应及其抗寒性研究[J]. 草地学报, 2021, 29(11): 2505-2512
LI J Q, LIU X J, YUN X K, et al. Response of alfalfa to low temperatures at different growth stages and its cold resistance [J]. Acta Agrestia Sinica, 2021, 29(11): 2505-2512
- [27] 张丽丽. 黄花草薹和紫花苜蓿抗冻的生理和分子机理研究[D]. 北京: 中国科学院植物研究所, 2011: 54-56
ZHANG L L. Studies on the physiological and molecular mechanisms of freeze-resistance in *Medicago falcata* and *Medicago truncatula* [D]. Beijing: Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, 2011: 54-56
- [28] 孙明雪, 张玉霞, 丛百明, 等. 不同苜蓿的抗寒性差异及其与糖类物质含量的相关性研究[J]. 草地学报, 2021, 29(2): 303-308
SUN M X, ZHANG Y X, CONG B M, et al. Study on the difference in cold resistance of different alfalfa and its correlation with carbohydrate content [J]. Acta Agrestia Sinica, 2021, 29 (2): 303-308
- [29] ZHUO C L, LIANG L, ZHAO Y Q, et al. A cold responsive ethylene responsive factor from *Medicago falcata* confers cold tolerance by up-regulation of polyamine turnover, antioxidant protection, and proline accumulation [J]. Plant, Cell & Environment, 2018, 41(9): 2021-2032
- [30] 黄迎新. 黄花草薹品种形态分异与再生特性的研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2006: 5-8
HUANG Y X. Research on the morphological variation and regrowth characteristics of *Medicago falcata* L. cultivars [D]. Changchun: Northeast Normal University, 2006: 5-8
- [31] 李佳佳, 于旭东, 蔡泽坪, 等. 高等植物叶绿素生物合成研究进展[J]. 分子植物育种, 2019, 17(18): 6013-6019
LI J J, YU X D, CAI Z P, et al. An overview of chlorophyll biosynthesis in higher plants [J]. Molecular Plant Breeding, 2019, 17(18): 6013-6019
- [32] 马亚珺, 杨国柱, 童永尚, 等. 低温胁迫对紫花苜蓿幼苗生理特性的影响[J]. 青海大学学报, 2022, 40(6): 16-19
MA Y J, YANG G Z, TONG Y S, et al. Effects of low temperature stress on the physiological characteristics of *Medicago sativa* seedlings [J]. Journal of Qinghai University, 2022, 40 (6): 16-19
- [33] 冉卓. 低温胁迫紫花苜蓿生理生化特性和解剖结构的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2017: 19-20
RAN Z. Effect on physiological and biochemical characteristics and anatomical structure of alfalfa under low temperature stress [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2017: 19-20
- [34] 郑锋, 白小明, 冉福, 等. 10 份沿阶草族种质对低温胁迫的生理响应及抗寒性评价[J]. 中国草地学报, 2023, 45(12): 21-32
ZHENG F, BAI X M, RAN F, et al. Physiological response and cold resistance of ten ophiopogoneae germplasms under low temperature stress [J]. Chinese Journal of Grassland, 2023, 45 (12): 21-32
- [35] 颜旭. 川牛膝抗寒种质的筛选及其耐寒机理研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2014: 24-25

- YAN X. Screening and cold hardy mechanism of germplasm research *Cyathula officinalis* Kuan[D]. Yaan:Sichuan Agricultural University, 2014:24-25
- [36] 赵娜,徐庆国,苏鹏,等. 7个暖季型草坪草品种对低温胁迫的抗性差异研究[J]. 草地学报,2020,28(2):375-382
- ZHAO N, XU Q G, SU P, et al. Resistance to low temperature of 7 warm-season turfgrass varieties[J]. Acta Agrestia Sinica, 2020, 28(2):375-382
- [37] 张适阳,刘凤民,崔均涛,等. 三种外源物质对低温胁迫下柱花草生理与荧光特性的影响[J]. 草业学报,2023,32(6):85-99
- ZHANG S Y, LIU F M, CUI J T, et al. Effects of three exogenous substances on the physiological and fluorescence characteristics of *Stylosanthes guianensis* under low-temperature stress [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2023, 32(6):85-99
- [38] 毛林鲜,朱芸琦,吴美丽,等. 低温胁迫对3种蕨类植物生理指标的影响[J]. 西南农业学报,2022,35(12):2772-2779
- MAO L X, ZHU Y Q, WU M L, et al. Effects of low temperature stress on physiological indexes of three species of ferns[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2022, 35(12):2772-2779
- [39] 陈世茹,于林清,易津,等. 低温胁迫对紫花苜蓿叶片叶绿素荧光特性的影响[J]. 草地学报,2011,19(4):596-600
- CHEN S R, YU L Q, YI J, et al. Influence of chlorophyll fluorescence characteristics on alfalfa seedlings under cryogenic stress[J]. Acta Agrestia Sinica, 2011, 19(4):596-600
- [40] 许耀照,王小明,许倩,等. 自然低温条件下白菜型冬油菜叶绿素荧光特性分析[J]. 河西学院学报,2024,40(5):47-54
- XU Y Z, WANG X M, XU Q, et al. Analysis of chlorophyll fluorescence characterist in winter turnip rapeics (*Brassica rapa* L.) under natural low temperature conditionsature[J]. Journal of Hexi University, 2024, 40(5):47-54
- [41] 郑锋,白小明,冉福,等. 10份沿阶草族种质材料叶片光合特性对低温胁迫的响应及抗寒性评价[J]. 草原与草坪,2024,44(6):42-52
- ZHENG F, BAI X M, RAN F, et al. Responses of leaf photosynthetic characteristics to low temperature stress in 10 *Ophiopogoneae* germplasms and evaluation of cold resistance [J]. Grassland and Turf, 2024, 44(6):42-52
- [42] SHI H F, HE S J, HE X Y, et al. An eukaryotic elongation factor 2 from *Medicago falcata* (*MjEF2*) confers cold tolerance [J]. BMC Plant Biology, 2019, 19(1):218
- [43] 董双慧,贾明,张辉,等. 四倍体青绿苔草对低温的生理响应及耐寒性评价[J]. 草地学报,2024,32(7):2089-2098
- DONG S H, JIA M, ZHANG H, et al. The physiological response and tolerance evaluation of tetraploid *Carex breviculmis* to low temperature[J]. Acta Agrestia Sinica, 2024, 32(7):2089-2098

(责任编辑 闵芝智)