

苜蓿抗寒性对秋季施用钾肥 种类及用量的生理响应

孙明雪¹, 张玉霞¹, 丛百明², 夏全超¹, 田永雷³, 张庆昕¹, 杜晓艳¹

(1. 内蒙古民族大学农学院/内蒙古自治区饲用作物工程技术研究中心, 内蒙古 通辽 028041; 2. 内蒙古自治区通辽市畜牧兽医科学研究所, 内蒙古 通辽 028000; 3. 内蒙古自治区农牧业科学院, 内蒙古 呼和浩特 010010)

摘要:通过分析施用不同钾肥下的苜蓿越冬器官在低温处理下生理特性的变化,探讨苜蓿抗寒性对秋季施用钾肥种类及用量的响应,以北极熊紫花苜蓿品种为供试材料,于秋季施用 K_2SO_4 和 KCl 两种钾肥,施用量为 0、50、100、150、200 $kg \cdot hm^{-2} K_2O$ (用 K_0 、 K_1 、 K_2 、 K_3 、 K_4 表示),于苜蓿越冬前期挖取越冬材料,进行模拟低温处理(4℃, -20℃),测定苜蓿根颈相对电导率、自由水、束缚水、脯氨酸、游离氨基酸含量。结果表明: KCl 和 K_2SO_4 两种钾肥, -20℃处理下苜蓿根颈自由水含量较4℃处理分别降低了11%~26%和9%~51%,自由水/束缚水较4℃处理分别降低了15.09%~53.56%和22.95%~71.98%; KCl 和 K_2SO_4 两种钾肥, -20℃处理下苜蓿根颈相对电导率较4℃处理分别增长了129.70%~170.10%和53.39%~143.52%,束缚水含量较4℃处理分别增长了4.89%~88.21%和16.30%~164.49%,游离氨基酸含量较4℃处理分别增长了7.01%~50.32%和6.40%~82.69%,脯氨酸含量较4℃处理分别增长了1.71%~18.10%和3.40%~29.67%;在-20℃处理下 K_2SO_4 肥处理的苜蓿根颈束缚水、游离氨基酸和脯氨酸含量均高于 KCl 肥处理,且在 K_3 处理的施肥量为 150 $kg \cdot hm^{-2} K_2O$ 时束缚水含量、游离氨基酸含量和脯氨酸含量较 KCl 肥处理分别增长了12.50%、22.32%和1.53%,自由水含量、自由水/束缚水较 KCl 肥处理分别降低了14.91%和24.71%。因此,秋季施用 150 $kg \cdot hm^{-2} K_2O$ 的 K_2SO_4 肥最有利于苜蓿安全越冬,主要通过提高游离氨基酸、脯氨酸渗透调节物质含量,降低自由水含量和自由水/束缚水,提高苜蓿抗寒性。

关键词: 钾肥; 施用量; 种类; 苜蓿; 抗寒性; 生理响应

中图分类号: S541.1⁺1 文献标志码: A

Physiological response of alfalfa cold resistance to types and rates of fall potassium fertilizer application

SUN Mingxue¹, ZHANG Yuxia¹, CONG Baiming², XIA Quanchao¹,
TIAN Yonglei³, ZHANG Qingxin¹, DU Xiaoyan¹

(1. College of Agriculture, Inner Mongolia Minzu University/Inner Mongolia Autonomous Region Feedstuff Engineering Technology Research Center, Tongliao, Inner Mongolia 028041, China;
2. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Tongliao, Inner Mongolia 028000, China;
3. Academy of Agriculture and Animal Husbandry, Hohhot, Inner Mongolia 010010, China)

Abstract: By analyzing the physiological characteristics of overwintering organs of alfalfa cultured with different potassium fertilizers under low temperature treatment, the response of the cold resistance of alfalfa to the types and amounts of potassium fertilizer applied during fall was discussed. In this experiment, the 'Gibraltar' alfalfa variety was used as the test material. Two kinds of potassium fertilizers, K_2SO_4 and KCl , were applied in fall, and the application rates were 0, 50, 100, 150, 200 $kg \cdot hm^{-2} K_2O$ (indicated by K_0 , K_1 , K_2 , K_3 , K_4). The overwintering materials were excavated in the early stage of overwintering of alfalfa, and subjected to simulated low tem-

perature treatment (4°C, -20°C) to determine the relative conductivity of the alfalfa root neck, free water, bound water, proline, and free amino acid content. The results showed that for KCl and K₂SO₄, the free water content of alfalfa root neck at -20°C was reduced by 11%~26% and 9%~51%, respectively, compared with the cold storage treatment at 4°C, and free water/bound water were reduced by 15.09%~53.56% and 22.95%~71.98% respectively compared with 4°C treatment. For KCl and K₂SO₄, the relative conductivity of alfalfa root neck under -20°C treatment increased by 129.70%~170.10% and 53.39%~143.52%, respectively, compared with 4°C treatment. The content of bound water was higher than 4°C treatment and increased by 4.89%~88.21% and 16.30%~164.49%, respectively. Free amino acid content increased by 7.01%~50.32% and 6.40%~82.69% compared with 4°C treatment respectively. The proline content increased by 1.71%~18.10% and 3.40%~29.67%, respectively, compared with the treatment at 4°C. The content of bound water, free amino acid and proline in the root neck of alfalfa treated with K₂SO₄ were higher than that of KCl treatment under the low temperature freezing treatment at -20°C. The bound water content and free amino acid content of the K₃ treatment were 150 kg·hm⁻² K₂O. Compared with the KCl treatment, the content and the proline content increased by 12.50%, 22.32% and 1.53%, respectively. Compared with the KCl treatment, the free water content and free water/bound water decreased by 14.91% and 24.71%, respectively. Therefore, the application of 150 kg·hm⁻² K₂O of K₂SO₄ in fall was most conducive to the safe overwintering of alfalfa as it increased the content of free amino acids and proline osmotic adjustment substances, reduced the free water content and the free water/bound water ratio, and improved the cold resistance of alfalfa.

Keywords: potassium fertilizer; fertilizer amount; type; alfalfa; cold resistance; physiological response

紫花苜蓿 (*Medicago sativa* L.) 是被誉为“饲草之王”的多年生豆科牧草^[1], 具有适应性强、营养价值高的特点, 在世界各地种植面积超过 3 000 万公顷^[2]。我国的苜蓿栽培面积在国家扶持政策和区域化农业布局优化调整的引导下, 已达到 377 万 hm² 以上^[3], 其中科尔沁沙地的苜蓿生产也得以快速发展, 成为新兴苜蓿优势生产区^[4-6]。紫花苜蓿作为多年生牧草翌年产量的高低取决于苜蓿根颈能否安全越冬^[7-8], 而科尔沁沙地冬季温度低, 昼夜温差大, 降水少等气象特点都是限制苜蓿安全越冬的重要因素^[9]。氮、磷、钾是维持植物生命活动最重要的大量元素^[10-11], 其中钾元素是苜蓿维持生长发育的必要营养元素, 钾肥既能促进碳水化合物的转运及蛋白质的合成^[12-13], 又能调节植物气孔关闭, 活化多种酶, 提高植物抗逆性。钾肥种类及用量对苜蓿抗寒性的影响是否存在差异, 如何通过调控水分含量及状态、含氮保护物质提高苜蓿抗寒性方面的研究尚少。为此, 本研究采用大田试验对苜蓿进行秋季施用 KCl 和 K₂SO₄ 两种钾肥的不同施用量处理, 越冬前期挖取越冬材料采用低温冷藏和低温冷冻处理人工模拟低温处理, 测定苜蓿根颈相对电导率、含水量及含氮保护物质变化, 以期找到更经济有效的钾肥种类及用量, 为科尔沁沙地生境下合理施用钾肥提高苜蓿抗寒性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地位于内蒙古民族大学科技示范园区 (43°36'N, 122°22'E)。该地区属于温带半干旱大陆性气候, 四季分明, 降水集中, 冬季漫长寒冷, 降水少。年平均气温 5.5°C, ≥10°C 年积温为 3 000°C~3 200°C, 无霜期 140~150 d, 年平均降水量约 375 mm, 年平均风速 3.0~4.4 m·s⁻¹, 土壤为透气性好、保水保肥较差、土壤温度变幅较大的沙壤土, 土壤有机质含量为 63.50 mg·kg⁻¹, 碱解氮含量 34.95 mg·kg⁻¹, 全氮含量 43.00 mg·kg⁻¹, 速效磷含量 3.65 mg·kg⁻¹, 速效钾含量 78.01 mg·kg⁻¹。

1.2 供试材料

供试紫花苜蓿 (*M. sativa*) 品种为北极熊, 由北京百斯特有限公司提供。供试肥料为 K₂SO₄ (K₂O 50%) 和 KCl (K₂O 60%)。

1.3 试验方法

1.3.1 大田试验设计 试验采用随机区组设计, 于 2018 年 7 月 2 日播种北极熊苜蓿品种, 播种量为 22.5 kg·hm⁻², 行距为 30 cm, 小区面积为 3 m×5 m = 15 m²。播种前一次性施入过磷酸钙 200 kg·hm⁻² 为基肥。两个钾肥各设置 5 个处理: K₀ (不施钾)、K₁ (50 kg·hm⁻²)、K₂ (100 kg·hm⁻²)、K₃ (150

kg·hm⁻²、K₄(200 kg·hm⁻²)K₂O,每个处理设置 3 次重复,共 27 个小区,均作为基肥一次性施入。试验田进行指针式喷灌,并正常进行杂草防除、病虫害防治等管理。于封冻前期挖取长势一致的苜蓿越冬材料(包括根系、根颈、越冬芽),带回室内进行低温处理。

1.3.2 低温处理试验 每个处理取 50 株长势均匀一致的苜蓿越冬材料,平均分成两份,1 份放入 4℃ 冰箱中储存(低温冷藏),将另 1 份苜蓿根系用蒸馏水冲洗干净,整齐地排放在 20 cm×30 cm 的脱脂纯棉布上包裹好,后用 3 mL 蒸馏水均匀喷洒,使棉布保持湿润,最后用 30 cm×30 cm 的锡箔纸包裹好,放入程式恒温恒湿试验箱进行-20℃低温处理(低温冷冻)。程式恒温恒湿试验箱设置为:以 4℃ 为起点,先以每小时 4℃ 的速度降温,到达-20℃后保持 6 h,以后以每小时 4℃ 的速度升温至 4℃,取出后在 4℃ 下放置 12 h,与冷藏处理材料同时测定苜蓿根颈相对电导率、自由水、束缚水及游离氨基酸和脯氨酸含量。

1.4 测定指标及方法

相对电导率采用 DDS 电导率仪进行测定^[14],自由水和束缚水含量采用阿贝折射仪测定^[15],采用水合茚三酮法测定游离氨基酸含量^[15],采用酸性茚三酮法测定脯氨酸含量^[15]。

1.5 数据统计分析

试验数据用 Microsoft Excel 软件处理、制作表格,用 DPS 7.0 软件进行方差显著性分析及相关性分析,采用二因素试验统计分析 Duncan 新复极差法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同钾肥种类及用量对苜蓿根颈相对电导率的影响

如表 1 所示,在 4℃ 低温冷藏处理下苜蓿根颈的相对电导率,KCl 肥在 K₂ 和 K₃ 处理下的相对电导率显著低于 CK ($P<0.05$),分别降低了 19.73% 和 13.91%;K₂SO₄ 肥的相对电导率在各处理下均显著低于 CK ($P<0.05$),且在 K₃ 处理下达到最小值。在-20℃ 低温冷冻处理下,KCl 和 K₂SO₄ 肥处理苜蓿根颈的相对电导率较 4℃ 处理分别增加了 135.66%、153.22%、170.10%、129.70%、138.02% 和 135.66%、94.01%、53.39%、86.52%、143.52%,说明-20℃ 低温冷冻处理增加了细胞膜透性,使细胞外渗液增多。K₂SO₄ 肥在各施肥量处理下的相对电导率均显著低于 KCl 肥 ($P<0.05$),两种钾肥在 K₃ 和 K₄ 处理下的

相对电导率均显著低于 CK ($P<0.05$),且在 K₃ 处理下最低,分别为较 CK 降低了 16.09% 和 44.21%,说明施用钾肥有利于提高苜蓿抗寒性,且 K₂SO₄ 肥优于 KCl 肥,施用量以 150 kg·hm⁻² K₂O 为宜。

表 1 不同钾肥处理苜蓿根颈在低温处理下的相对电导率变化/%

Table 1 Changes in relative conductivity of alfalfa root necks cultured with different potassium fertilizers under low temperature treatment

温度处理/℃ Temperature treatment	施肥量处理 Fertilizer treatment	钾肥种类 Potassium fertilizer type	
		KCl	K ₂ SO ₄
4	K ₀	21.79±1.47ABa	21.79±1.47Aa
	K ₁	19.56±1.11BCa	18.20±1.13Ba
	K ₂	17.49±0.82Ca	18.28±1.09Ba
	K ₃	18.76±0.58Ca	15.36±0.62Cb
	K ₄	23.20±1.18Aa	18.06±1.25Bb
-20	K ₀	51.35±2.82b/a	51.35±2.82Aa
	K ₁	49.53±1.71bc/a	35.31±0.70Cb
	K ₂	47.24±1.78c/a	28.04±0.94Db
	K ₃	43.09±0.62d/a	28.65±1.54Db
	K ₄	55.22±0.92a/a	43.98±1.08Bb

注:不同大写字母表示在同种钾肥不同施用量处理下的差异显著 ($P<0.05$);不同小写字母表示在相同钾肥用量不同钾肥种类处理下的差异显著 ($P<0.05$),下同。

Note: Different capital letters indicate the significance of the difference under different application rates of the same type of potassium fertilizer ($P<0.05$); Different lowercase letters indicate the significance of the difference under the same potassium fertilizer rate and different types of potassium fertilizer ($P<0.05$), the same below.

2.2 不同钾肥种类及用量对苜蓿根颈自由水含量的影响

如表 2 所示,在 4℃ 冷藏处理下苜蓿根颈的自由水含量,KCl 肥在 K₃ 和 K₄ 处理下的自由水含量显著低于 CK ($P<0.05$),分别降低了 17% 和 13%;K₂SO₄ 肥的自由水含量在各处理下均较 CK 无显著性差异。在-20℃ 处理下,KCl 肥处理苜蓿根颈的自由水含量较 4℃ 处理分别降低了 11.94%、10.74%、21.59%、26.90%、13.95%,K₂SO₄ 肥处理苜蓿根颈的自由水含量较 4℃ 处理分别降低了 11.94%、10.62%、24.68%、51.34%、36.36%,说明-20℃ 处理下苜蓿根颈自由水含量降低;KCl 肥在 K₂、K₃ 和 K₄ 施肥量处理下的自由水含量显著低于 CK ($P<0.05$),分别降低了 14.96%、31.89% 和 16.08%;K₂SO₄ 肥在 K₂、K₃ 和 K₄ 处理下的自由水含量显著低于 CK ($P<0.05$),分别降低了 12.26%、42.05% 和 28.88%;-20℃ 低温冷冻处理下 K₂SO₄ 肥的自由水含量小于 KCl 肥(K₂ 处理除外),且在 K₃ 施用量处理下苜蓿根颈自由水含量达到最小值,说明施用适量

的钾肥有利于降低苜蓿自由水含量,且 K_2SO_4 肥优于 KCl 肥,施用量为 K_3 处理 $150 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} K_2O$ 时,苜蓿根颈中自由水含量最低,细胞保水能力更强。

2.3 不同钾肥种类及用量对苜蓿根颈束缚水含量的影响

如表 3 所示,在 4°C 处理下苜蓿根颈的束缚水含量,KCl 各施肥量处理下的束缚水含量均显著高于 CK ($P<0.05$),且在 K_3 下达到最大值; K_2SO_4 的束缚水含量在 K_1 、 K_3 和 K_4 施肥量处理下显著高于 CK ($P<0.05$),且在 K_3 下达到最大值,较 CK 增加了 50%。在 -20°C 处理下,KCl 肥处理苜蓿根颈的束缚水含量较 4°C 处理分别增加了 88.21%、4.89%、62.54%、55.02%、41.56%, K_2SO_4 肥处理苜蓿根颈的束缚水含量较 4°C 处理分别增加了 88.21%、16.30%、164.46%、150.94%、91.62%,说明 -20°C 低温处理下苜蓿根颈束缚水含量明显增加;KCl 肥的 K_3 施肥量处理下的束缚水含量显著高于 CK ($P<0.05$),增加了 71.88%; K_2SO_4 肥在 K_2 、 K_3 和 K_4 处理下的束缚水含量显著高于 CK ($P<0.05$),分别增加了 29.83%、93.37% 和 39.72%; K_2SO_4 处理的束缚水含量均大于 KCl 处理下的束缚水含量,说明施用钾肥有利于增加苜蓿根颈中束缚水含量,且 K_2SO_4 优于 KCl, K_3 处理的施用量为 $150 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} K_2O$,苜蓿根颈中束缚水含量最高。

2.4 不同钾肥种类及用量对苜蓿根颈自由水/束缚水的影响

如表 4 所示, 4°C 低温冷藏处理的苜蓿根颈的自由水/束缚水在 KCl 肥 K_3 处理下最小,在 K_2SO_4 肥 K_1 处理下最小。 -20°C 处理的苜蓿根颈的自由水/束缚水均较 4°C 处理明显减小,说明低温冷冻处理会

表 2 不同钾肥处理苜蓿根颈在低温处理下自由水含量的变化/%

Table 2 Changes of free water content in root neck of alfalfa cultivated with different potassium fertilizers under low temperature treatment

温度处理/ $^\circ\text{C}$ Temperature treatment	施肥量处理 Fertilizer treatment	钾肥种类 Potassium fertilizer type	
		KCl	K_2SO_4
4	K_0	46.40±1.08Aa	46.40±1.08Aa
	K_1	45.27±1.56ABa	43.21±0.75Aa
	K_2	44.42±2.23ABa	47.60±1.48Aa
	K_3	38.07±3.09Cb	48.66±3.32Aa
	K_4	39.85±3.74CBb	45.66±3.21Aa
-20	K_0	40.86±1.51Aa	40.86±1.51Aa
	K_1	40.41±2.00Aa	38.62±1.76ABa
	K_2	34.83±2.05Ba	35.85±1.83Ba
	K_3	27.83±2.58Ca	23.68±2.86Da
	K_4	34.29±1.71Ba	29.06±2.25Cb

使自由水/束缚水降低; K_2SO_4 处理下自由水/束缚水小于 KCl 肥处理,且两种钾肥处理下的 K_3 施肥量下自由水/束缚水最小,说明施肥量为 $150 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} K_2O$ 最有利于促进苜蓿根颈束缚水含量的增加和自由水含量的降低,且 K_2SO_4 肥优于 KCl 肥。

2.5 不同钾肥种类及用量对苜蓿根颈游离氨基酸含量的影响

如表 5 所示,在 4°C 冷藏处理下苜蓿根颈的游离氨基酸含量,KCl 处理下的游离氨基酸含量在 K_1 和 K_2 施肥量下显著高于 CK ($P<0.05$),且在 K_2 下达到最大值; K_2SO_4 处理下的游离氨基酸含量在 K_1 施肥量处理下显著高于 CK ($P<0.05$),较 CK 增加了 23.74%。在 -20°C 低温处理下,KCl 处理苜蓿根颈的游离氨基酸含量除 K_1 处理外较 4°C 处理分别增加了 10.07%、21.59%、50.32%、7.01%, K_2SO_4 处理苜蓿根颈的游离氨基酸含量较 4°C 处理分别增加了 10.07%、6.40%、54.78%、82.69%、21.77%,说明 -20°C

表 3 不同钾肥处理苜蓿根颈在低温处理下束缚水含量的变化/%

Table 3 Changes of irreducible water content in the root neck of alfalfa cultivated with different potassium fertilizers under low temperature treatment

温度处理/ $^\circ\text{C}$ Temperature treatment	施肥量处理 Fertilizer treatment	钾肥种类 Potassium fertilizer type	
		KCl	K_2SO_4
4	K_0	10.26±1.57Ca	10.26±1.57Ba
	K_1	14.52±1.69Ba	14.18±0.69Aa
	K_2	14.07±1.28Ba	9.48±1.35Bb
	K_3	21.41±1.65Aa	14.88±0.74Ab
	K_4	16.46±1.63Ba	14.08±0.82Aa
-20	K_0	19.31±2.03Ba	19.31±2.03Ca
	K_1	15.23±1.53Ca	16.49±1.02Ca
	K_2	22.87±1.70Ba	25.07±2.24Ba
	K_3	33.19±2.17Ab	37.34±1.19Aa
	K_4	23.30±1.30Ba	26.98±2.13Ba

表 4 不同钾肥处理苜蓿根颈在低温处理下自由水/束缚水的变化

Table 4 Free water/bound water changes of alfalfa root necks cultured with different potassium fertilizers under low temperature treatment

温度处理/ $^\circ\text{C}$ Temperature treatment	施肥量处理 Fertilizer treatment	钾肥种类 Potassium fertilizer type	
		KCl	K_2SO_4
4	K_0	4.63	4.63
	K_1	3.18	3.05
	K_2	3.17	5.14
	K_3	1.80	3.28
	K_4	2.46	3.27
-20	K_0	2.15	2.15
	K_1	2.70	2.35
	K_2	1.54	1.44
	K_3	0.85	0.64
	K_4	1.48	1.08

处理下苜蓿根颈游离氨基酸含量增加;KCl 的 K_2 、 K_3 和 K_4 施肥量处理下的游离氨基酸含量显著高于 CK ($P < 0.05$), 分别增加了 39.87%、53.33% 和 9.80%; K_2SO_4 肥在各施肥量处理下的游离氨基酸含量均显著高于 CK ($P < 0.05$), 分别增加了 19.61%、58.82% 和 86.27% 和 16.99%; K_2SO_4 肥处理的游离氨基酸含量在各施肥量处理下均大于 KCl 处理下的游离氨基酸含量, 说明施用钾肥有利于增加苜蓿根颈中游离氨基酸含量, 且 K_2SO_4 肥优于 KCl 肥, 施用量以 $150 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} K_2O$ 时, 苜蓿根颈中游离氨基酸含量最高。

2.6 不同钾肥种类及用量对苜蓿根颈脯氨酸含量的影响

如表 6 所示, 4°C 处理苜蓿根颈的脯氨酸含量, KCl 肥处理的脯氨酸含量在 K_2 、 K_3 和 K_4 施肥量下显著高于 CK ($P < 0.05$), 且在 K_3 处理下达到最大值; K_2SO_4 肥处理下的脯氨酸含量在 K_3 和 K_4 施肥量处理下显著高于 CK ($P < 0.05$), 较 CK 分别增加了 20.71% 和 11.90%。在 -20°C 低温处理下, KCl 肥处理苜蓿根颈的脯氨酸含量较 4°C 处理分别增加了 18.10%、11.47%、3.09%、14.23% 和 1.71%, K_2SO_4 肥处理苜蓿根颈的脯氨酸含量较 4°C 处理分别增加了 18.10%、12.27%、29.67%、11.64%、3.40%, 说明 -20°C 处理的苜蓿根颈脯氨酸含量增加; KCl 肥的 K_3 施肥量处理下的脯氨酸含量显著高于 CK ($P < 0.05$), 增加了 13.31%; K_2SO_4 肥的 K_2 和 K_3 施肥量处理下的脯氨酸含量显著高于 CK ($P < 0.05$), 分别增加了 9.27% 和 14.11%; K_2SO_4 肥处理的脯氨酸含量在各施肥量处理下均大于 KCl 肥处理下的脯氨酸含量。说明施用钾肥有利于增加苜蓿根颈中脯氨酸含量, 且 K_2SO_4 肥优于 KCl 肥, 施用量以 K_3 施肥量处理的 $150 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} K_2O$ 时, 苜蓿根颈中脯氨酸含量最高。

2.7 苜蓿根颈相对电导率与含水量和含氮保护物质含量的相关性

如表 7 所示, 4°C 处理下, 自由水/束缚水与束缚水含量呈极显著负相关 ($P < 0.01$), KCl 肥处理下的自由水与束缚水含量、自由水/束缚水呈极显著负相关 ($P < 0.01$); K_2SO_4 肥处理的束缚水含量与脯氨酸含量呈显著正相关 ($P < 0.05$)。如表 8 所示, -20°C 低温处理下, 自由水/束缚水与束缚水含量呈极显著负相关 ($P < 0.01$), 与自由水含量呈极显著正相关 ($P < 0.01$); KCl 肥处理的相对电导率与脯氨酸含量呈显著负相关 ($P < 0.05$); 自由水含量与束缚水含量呈极显著负相关 ($P < 0.01$), 与游离氨基酸含量

呈显著负相关 ($P < 0.01$); 束缚水含量与游离氨基酸、脯氨酸含量呈显著正相关 ($P < 0.05$)。 -20°C 低温处理下, K_2SO_4 肥处理的相对电导率与游离氨基酸含量呈显著负相关 ($P < 0.05$), 自由水含量与束缚水含量呈极显著负相关 ($P < 0.01$), 束缚水含量与游离氨基酸含量呈显著正相关 ($P < 0.05$), 游离氨基酸含量与脯氨酸含量呈极显著正相关 ($P < 0.01$)。说明苜蓿根颈束缚水含量、脯氨酸含量和游离氨基酸含量越高, 相对电导率、自由水含量和自由水/束缚水越低, 苜蓿细胞膜透性越低, 苜蓿抗寒性越强。

3 讨论

植物受到低温胁迫时, 细胞原生质结构会受到破坏, 导致细胞膜透性增大, 进而使电解质外渗液增多, 相对电导率增大, 因此相对电导率是反映植物受伤程度及抗寒性强弱的重要指标之一^[16-18]。

表 5 施用不同钾肥苜蓿根颈在低温处理下游离氨基酸含量的变化/ $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$

Table 5 Changes of free amino acid content in root neck of alfalfa cultivated with different potassium fertilizers under low temperature treatment

温度处理/ $^\circ\text{C}$ Temperature treatment	施肥量处理 Fertilizer treatment	钾肥种类 Potassium fertilizer type	
		KCl	K_2SO_4
4	K_0	1.39±0.05Ca	1.39±0.05Ba
	K_1	1.68±0.17ABa	1.72±0.15Aa
	K_2	1.76±0.08Aa	1.57±0.04ABb
	K_3	1.55±0.02BCa	1.56±0.04ABa
	K_4	1.57±0.05ABCa	1.47±0.10Ba
-20	K_0	1.53±0.08Ba	1.53±0.08Da
	K_1	1.53±0.08Ba	1.83±0.07Ca
	K_2	2.14±0.18Aa	2.43±0.11Ba
	K_3	2.33±0.09Aa	2.85±0.09Aa
	K_4	1.68±0.13Ba	1.79±0.04Ca

表 6 施用不同钾肥苜蓿根颈在低温处理下脯氨酸含量的变化/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$

Table 6 Changes of proline content in root neck of alfalfa cultivated with different potassium fertilizers under low temperature treatment

温度处理/ $^\circ\text{C}$ Temperature treatment	施肥量处理 Fertilizer treatment	钾肥种类 Potassium fertilizer type	
		KCl	K_2SO_4
4	K_0	4.20±0.07Ba	4.20±0.07Ca
	K_1	4.36±0.20Ba	4.40±0.18Ca
	K_2	4.85±0.10Aa	4.18±0.13Cb
	K_3	4.92±0.15Aa	5.07±0.09Aa
	K_4	4.67±0.08Aa	4.70±0.07Ba
-20	K_0	4.96±0.08Ba	4.96±0.08Ba
	K_1	4.86±0.09Ba	4.94±0.18Ba
	K_2	5.00±0.07Ba	5.42±0.14Aa
	K_3	5.62±0.13Aa	5.66±0.17Aa
	K_4	4.75±0.13Ba	4.86±0.18Ba

相对电导率越大,植物受伤害的程度越大。本研究结果表明,4℃低温冷藏处理下苜蓿根颈相对电导率明显低于-20℃冷冻处理。马娟娟等^[19]的研究结果表明,随着低温胁迫强度的增加,北美冬青新品种苗木相对电导率呈上升趋势,与本研究结果一致;而-20℃低温冷冻处理下,随着施钾量的增加,相对电导率降低,且在施用量为 150 kg · hm⁻²K₂O(K₃)下最低,说明适量的钾有利于减少电解质外渗,与游明鸿等^[20]的研究结果一致。

植物细胞中的水分以自由水和束缚水两种状态存在^[21],自由水含量高时,植物代谢旺盛,抗寒性弱^[22],束缚水含量高时,植物细胞生命代谢缓慢,细胞原生质粘稠性增加,冰点降低^[12]。逆境条件下,植物自由水/束缚水降低,保水能力增强,维持细胞正常生命活动^[23]。本研究结果表明,-20℃低温冷冻下的自由水含量与4℃冷藏处理下的相比明显降

低,而束缚水含量明显增加。曹健冉^[24]的研究结果表明,越冬期间软枣猕猴桃的自由水含量下降,束缚水含量有所上升,与本研究一致;而本研究中低温冷冻处理下施用钾肥可以显著降低自由水含量,增加束缚水含量,说明适量的钾肥有利于低温胁迫下束缚水含量的增加及自由水含量的减少,从而增加细胞液浓度,降低水溶液冰点,提高苜蓿抗寒性,其中以 K₂SO₄施用量为 150 kg · hm⁻²K₂O(K₃)最有利于提高苜蓿抗寒性。

脯氨酸和游离氨基酸是植物体内两种重要的非结构性含氮保护物质,游离氨基酸既是蛋白质分解的产物^[25],又是合成蛋白质的原料,游离氨基酸含量一定程度上可以反映氮代谢的情况;脯氨酸作为水溶性最大的氨基酸^[26],因其有强大的保水能力,能够调节细胞渗透势^[27],当植物受到逆境胁迫时,通常会积累大量脯氨酸。本研究结果表明,-20℃

表 7 4℃处理下苜蓿根颈相对电导率与含水量和含氮保护物质含量的相关性
Table 7 Correlation between relative conductivity and water content and nitrogen-containing protective substance content in root neck of alfalfa under 4℃ treatment

钾肥种类 Potassium fertilizer type	生理指标 Physiological indicator	自由水/束缚水 Free water/bound water	自由水 Free water	束缚水 Bound water	游离氨基酸 Free amino acids	脯氨酸 Proline
KCl	自由水 Free water	0.91 *	1.00			
	束缚水 Bound water	-0.96 **	-0.92 **	1.00		
	游离氨基酸 Free amino acids	-0.39	0.00	0.21	1.00	
	脯氨酸 Proline	-0.82 *	-0.74	0.78	0.50	1.00
	相对电导率 Relative conductivity	0.22	-0.07	-0.25	-0.63	0.50
K ₂ SO ₄	自由水 Free water	0.42	1.00			
	束缚水 Bound water	-0.98 **	-0.23	1.00		
	游离氨基酸 Free amino acids	-0.43	-0.44	0.40	1.00	
	脯氨酸 Proline	-0.71	0.34	0.84 *	0.09	1.00
	相对电导率 Relative conductivity	0.53	-0.32	-0.67	-0.52	-0.80

注: * 表示显著相关($P<0.05$); ** 表示极显著相关($P<0.01$),下同。

Note: * significantly correlated ($P<0.05$); ** extremely significantly related ($P<0.01$), the same below.

表 8 -20℃处理下苜蓿根颈相对电导率与含水量和含氮保护物质含量的相关性
Table 8 Correlation between relative conductivity and water content and nitrogen-containing protective substance content in root neck of alfalfa under -20℃ treatment

钾肥种类 Potassium fertilizer type	生理指标 Physiological indicator	自由水/束缚水 Free water/bound water	自由水 Free water	束缚水 Bound water	游离氨基酸 Free amino acids	脯氨酸 Proline
KCl	自由水 Free water	0.94 **	1.00			
	束缚水 Bound water	-0.96 **	-0.96 **	1.00		
	游离氨基酸 Free amino acids	-0.81	-0.88 *	0.86 *	1.00	
	脯氨酸 Proline	-0.66	-0.74	0.83 *	0.80	1.00
	相对电导率 Relative conductivity	0.43	0.56	-0.58	-0.83 *	-0.89 *
K ₂ SO ₄	自由水 Free water	0.95 **	1.00			
	束缚水 Bound water	-0.97 **	-0.94 **	1.00		
	游离氨基酸 Free amino acids	-0.73	-0.71	0.82 *	1.00	
	脯氨酸 Proline	-0.64	-0.56	0.76	0.96 **	1.00
	相对电导率 Relative conductivity	0.44	0.44	-0.48	-0.88 *	-0.78

低温冷冻处理下的游离氨基酸含量与 4℃ 处理下的相比有增加的趋势。朱爱民等^[28]的研究表明,低温胁迫下苜蓿根颈中游离氨基酸含量增加,与本研究结果一致;-20℃ 低温冷冻处理下的游离氨基酸含量随着施钾量的增加有升高的趋势,但过量的钾又会使游离氨基酸含量下降,与程福皆等^[13]的研究结果一致,可能的原因是,适量的钾能促进植物对氮素的吸收^[29],进而使游离氨基酸含量增加。本研究结果表明,-20℃ 低温冷冻处理下的脯氨酸含量随着施钾量的增加有升高的趋势,并且明显高于 4℃ 处理下的脯氨酸含量,说明低温胁迫会使脯氨酸含量增加,并且适量的钾有利于脯氨酸的积累。研究表明施用 150 kg · hm⁻² K₂O 的 K₂SO₄ 最有利于提高苜蓿抗寒性,但过量的钾又会起抑制作用,可能的原因是,植物体内脯氨酸合成酶活性的增强和脯氨酸降解酶活性的降低会使脯氨酸含量增多,而钾作为植物体内多种酶的活化剂,过量的钾会抑制脯氨酸合成酶的活性,促进脯氨酸降解酶活性的增强^[30],并且过量的钾还会破坏细胞内渗透势的平衡,超出其自我调节能力,导致脯氨酸含量下降,其机理还有待进一步研究。

4 结 论

-20℃ 低温冷冻处理下苜蓿根颈相对电导率、束缚水含量、游离氨基酸含量和脯氨酸含量较 4℃ 冷藏处理下增加,自由水含量、自由水/束缚水降低;且 K₂SO₄ 肥处理束缚水含量、游离氨基酸和脯氨酸含量均高于 KCl 肥处理,自由水/束缚水低于 KCl 肥处理,说明 K₂SO₄ 肥优于 KCl 肥;-20℃ 低温冷冻处理下,施用量为 150 kg · hm⁻² K₂O 的 K₂SO₄ 肥最有利于提高苜蓿抗寒性。因此建议在科尔沁沙地进行苜蓿生产,秋季施用 K₂SO₄ 肥料 150 kg · hm⁻² K₂O 促进苜蓿安全越冬。

参 考 文 献:

[1] 丁东. 优质紫花苜蓿的适应性[J]. 中国畜禽种业, 2020, 16(5): 76-77.
DING D. Adaptability of high-quality alfalfa [J]. The Chinese Livestock and Poultry Breeding, 2020, 16(5): 76-77.

[2] CHEN H T, ZENG Y, YANG Y Z, et al. Allele-aware chromosome-level genome assembly and efficient transgene-free genome editing for the autotetraploid cultivated alfalfa[J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 2494.

[3] 康桂兰. 不同钾肥对紫花苜蓿产量和品质的影响[J]. 天津农业科学, 2014, 20(7): 81-82.
Kang G L. Effect of different potassium fertilizer on the yield and quality of alfalfa[J]. Tianjin Agricultural Sciences, 2014, 20(7): 81-82.

[4] 郝培彤, 宁亚明, 高秋, 等. 科尔沁沙地不同苜蓿品种越冬根颈耐

寒生理机制的研究[J]. 草业学报, 2019, 28(9): 87-95.

HAO P T, NING Y M, GAO Q, et al. A study of crown physiological mechanisms for cold tolerance of different alfalfa varieties in Horqin sandy land[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2019, 28(9): 87-95.

- [5] 库文珍, 赵运林, 董萌. 低钾胁迫对不同基因型水稻生长及生理指标的影响[J]. 生物技术进展, 2012, 2(3): 184-189.
KU W Z, ZHAO Y L, DONG M. Effect of low potassium stress on the growth and changes of several physiological indexes of different rice genotypes[J]. Current Biotechnology, 2012, 2(3): 184-189.
- [6] 荔淑楠. 钾素营养影响当归品质形成的生理机制研究[D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2016.
LI S N. Physiological mechanism of potassium nutrition on quality formation of *Angelica sinensis*[D]. Lanzhou: Gansu University of Chinese Medicine, 2016.
- [7] 高媛, 张炎, 胡伟, 等. 不同钾肥用量对长绒棉养分吸收、分配和利用的影响[J]. 棉花学报, 2009, 21(1): 39-45.
GAO Y, ZHANG Y, HU W, et al. Effect on the nutrient absorption, assignment and efficiency of different potassium fertilizer in sea-island cotton[J]. Cotton Science, 2009, 21(1): 39-45.
- [8] 罗宪. 钾肥对直播密植枣品质及抗寒性的影响[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2013.
LUO X. Effect of potassium on the inner quality and stress resistance of close planting Junzao[D]. Alar: Tarim University, 2013.
- [9] 朱爱民, 张玉霞, 王显国, 等. 8 个苜蓿品种抗寒性的比较[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2019, 47(1): 45-52.
ZHU A M, ZHANG Y X, WANG X G, et al. Comparison of cold resistance of 8 alfalfa varieties[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2019, 47(1): 45-52.
- [10] SAADATI S, BANINASAB B, MOBILI M, et al. Foliar application of potassium to improve the freezing tolerance of olive leaves by increasing some osmolyte compounds and antioxidant activity[J]. Scientia Horticulturae, 2021, 276: 109765.
- [11] KARIMI R. Potassium-induced freezing tolerance is associated with endogenous abscisic acid, polyamines and soluble sugars changes in grapevine[J]. Scientia Horticulturae, 2017, 215: 184-194.
- [12] 石延昭. 钾肥的施用量对羽衣甘蓝抗寒性的影响[J]. 中国园艺文摘, 2013, 29(7): 18-19, 44.
SHI Y Z. Effect of potash fertilizer on cold resistance of kales[J]. Chinese Horticulture Abstracts, 2013, 29(7): 18-19, 44.
- [13] 程福皆, 曹辰兴, 康鸾, 等. 不同钾水平对春棚小黄瓜产量及品质的影响[J]. 西北农业学报, 2009, 18(5): 276-279.
CHENG F J, CAO C X, KANG L, et al. Effects of different levels of nitrogen and potassium on yield and quality of spring mini-cucumber in arched shed[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2009, 18(5): 276-279.
- [14] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 第 2 版. 广州: 华南理工大学出版社, 2006.
CHEN J X, WANG X F. Experimental guidance of plant physiology [M]. 2nd ed. Guangzhou: South China University of Technology Press, 2006.
- [15] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
ZOU Q. Experimental guidance of plant physiology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000.

- [16] 高树涛,李文彬,郭绍霞,等.不同单株大叶女贞对冬季低温的生理响应[J].江苏农业科学,2019,47(20):168-172.
GAO S T, LI W B, GUO S X, et al. Physiological responses of *Ligustrum lucidum* to low temperature in winter[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2019, 47(20): 168-172.
- [17] 席吉龙,王珂,杨娜,等.不同小麦品种对晚霜冻的响应及抗霜性评价[J].干旱地区农业研究,2020,38(1):125-132,147.
XI J L, WANG K, YANG N, et al. Evaluation of responses of different wheat varieties to spring frost injury and their frost resistance[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2020, 38(1): 125-132, 147.
- [18] 郭仁迪,刘海卿,武军艳,等.抗寒复合剂对白菜型冬油菜生长发育及产量性状的影响[J].干旱地区农业研究,2017,35(4):263-269.
GUO R D, LIU H Q, WU J Y, et al. Effect of cold-resistant compounds on growth and yield of winter rapeseed (*Brassica rapa* L.) [J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2017, 35(4): 263-269.
- [19] 马娟娟,赵斌,陈颖,等.4个北美冬青品种苗对低温胁迫的生理响应及抗寒性比较[J].南京林业大学学报(自然科学版),2020,44(5):34-40.
MA J J, ZHAO B, CHEN Y, et al. Physiological responses of seedlings of four *Ilex verticillata* varieties to low temperature stress and a comparison of their cold resistance[J]. Journal of Nanjing Forestry University(Natural Science Edition), 2020, 44(5): 34-40.
- [20] 游明鸿,刘金平,毛凯,等.钾肥对提高假俭草抗寒性作用的研究[J].草业科学,2005,22(2):67-70.
YOU M H, LIU J P, MAO K, et al. Study on the influence of potassium on cold hardness of centipedegrass[J]. Pratacultural Science, 2005, 22(2): 67-70.
- [21] 张林平,刘艳,王洋,等.NaCl胁迫对甘草生长和渗透调节物质积累的影响[J].内蒙古农业大学学报(自然科学版),2020,41(3):10-15.
ZHANG L P, LIU Y, WANG Y, et al. The effects of NaCl stress on growth and accumulation of penetration adjustment substances in *Glycyrrhiza* [J]. Journal of Inner Mongolia Agricultural University (Natural Science Edition), 2020, 41(3): 10-15.
- [22] 彭远琴,赵金星,邱志浩,等.低温胁迫下橄榄耐寒性研究[J].江苏农业科学,2019,47(21):207-210.
PENG Y Q, ZHAO J X, QIU Z H, et al. Study on cold tolerance of olives under low temperature stress [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2019, 47(21): 207-210.
- [23] 李龙梅,白瑞琴,李燕,等.盐胁迫对野生植物龙牙草生长和理化特性的影响[J].内蒙古农业大学学报(自然科学版),2010,31(4):77-80.
LI L M, BAI R Q, LI Y, et al. Effects of salt stress on the growth, leaf cat activity and chlorophyll content in wild plant *Agrimonia pilosa* Ledeb[J]. Journal of Inner Mongolia Agricultural University(Natural Science Edition), 2010, 31(4): 77-80.
- [24] 曹健冉.软枣猕猴桃种质资源抗寒性评价及其抗寒生理机制研究[D].北京:中国农业科学院,2019.
CAO J R. Evaluation on cold resistance of germplasm resources and its physiological mechanisms of *Actinidia arguta* [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2019.
- [25] 田秀英,罗志军,王正银.钾肥对黄花梨叶片物质代谢及产量与品质的影响[J].北方园艺,2007,(10):9-11.
TIAN X Y, LUO Z J, WANG Z Y. Effect of potassium fertilizer on the leaf substance metabolism, yield and quality of Huanghua pear [J]. Northern Horticulture, 2007, (10): 9-11.
- [26] 张荣华,李拥军,张叶玲.脯氨酸含量对苜蓿抗寒性影响的研究[J].现代化农业,2006,(4):17-18.
ZHANG R H, LI Y J, ZHANG Y L. Study on effect of free proline content on cold resistance of alfalfa [J]. Modernizing Agriculture, 2006, (4): 17-18.
- [27] 孙业民,张俊莲,李真,等.氯化钾对干旱胁迫下马铃薯幼苗抗旱性的影响及其机制研究[J].干旱地区农业研究,2014,32(3):29-34.
SUN Y M, ZHANG J L, LI Z, et al. Effect of potassium chloride on drought resistance of potato seedlings [J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2014, 32(3): 29-34.
- [28] 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.
ZHU A M, ZHANG Y X, WANG X G, et al. Responses of physiological and biochemical characteristics of alfalfa to low temperature and their relationship with cold resistance in sandy habitats [J]. Pratacultural Science, 2019, 36(10): 2556-2568.
- [29] 张玲.不同施肥量与施肥时期对冬油菜产量与养分吸收的影响[D].长沙:湖南农业大学,2010.
ZHANG L. Different fertilizer application rates and application period on winter rapeseed yield and nutrient uptake [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2010.
- [30] 汪耀富,宋世旭,王佩,等.渗透胁迫对不同供钾水平烤烟叶片抗旱生理指标的影响[J].中国农学通报,2006,22(5):216-219.
WANG Y F, SONG S X, WANG P, et al. Effect of osmotic stress on physiological indices of drought resistance of flue-cured tobacco leaves under different potassium supplying [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2006, 22(5): 216-219.