

红三叶新品系的抗旱性研究

杨丹,田新会,杜文华

(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:为评价红三叶新品系(R)的抗旱性,以岷山红三叶(CK1)和甘红1号红三叶(CK2)为对照,采用人工控制干旱胁迫鉴定法,研究在不同程度干旱胁迫下,参试红三叶材料的7项生理生化指标。结果表明:3个红三叶材料中,R的平均丙二醛含量、超氧化物歧化酶和过氧化物酶活性最高,干旱胁迫使红三叶材料的平均叶片含水量和叶绿素含量逐渐降低,可溶性糖和丙二醛含量逐渐升高,叶片超氧化物歧化酶、过氧化物酶及过氧化氢酶活性呈先升高后下降;从红三叶材料与干旱胁迫时间交互作用来看,R的叶片含水量和叶绿素含量变化幅度较小,可溶性糖含量和丙二醛含量变化幅度较大,叶片超氧化物歧化酶和过氧化物酶活性最高。利用隶属函数法对3个红三叶材料的抗旱性综合评价得出,3个红三叶材料的抗旱性顺序依次为:R>CK2>CK1。

关键词:红三叶;抗旱性;隶属函数;综合评价

中图分类号:S541 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2020)05-0108-08

DOI: 10.13817/j.cnki.cyycp.2020.05.016

中国西北部多属于干旱、半干旱地区。在干旱、半干旱地区,水分缺乏对作物的产量和品质带来严重影响^[1],但在作物的不同生长发育时期其影响程度不同^[2]。据统计,全世界由于水分胁迫导致的作物减产超过其他因素造成减产的总和^[3]。在中国,干旱更是频繁发生,对农作物的生长和产量影响极大,造成巨大的经济损失,严重影响了农业经济发展及生态环境^[4]。若要有效地解决这一困难,一方面要采取现代灌溉技术,增加水分利用效率,改善农田水分环境;另一方面就是作物改良,通过吸纳外源优异种质资源来培育抗旱性强、具有优良农艺性状的品种(系),使之适应干旱环境条件,这不仅能满足日益发展的畜牧业的需求,而

且对于种植业结构调整也具有重要意义^[5]。

红三叶(*Trifolium pratense*)为豆科三叶草属植物中重要的牧草,具有产量高、品质好、适口性好等特点。红三叶喜温暖湿润气候,耐荫耐湿性强,适宜生长在水分充足的地区,在高温干旱地区栽培种植往往会造造成红三叶草产量下降,营养价值降低,严重时造成死亡^[6]。近年来,干旱对草牧业生产的威胁越来越大,红三叶种植区干旱少雨天气频发,培育和筛选抗旱红三叶品种(系)成为亟待解决的问题。但目前国内外对红三叶研究主要集中在引种栽培^[7-9]、生产性能^[10-11]和营养价值评价^[12]等方面,对红三叶抗旱种质筛选方面的研究较少,而我国目前审定通过的红三叶品种(系)仅有4个^[13],更不能满足生产需求。以澳大利亚红三叶品种 Sensation 和 Renegade 有性杂交培育的红三叶新品系为研究对象,岷山红三叶和甘红1号红三叶品种为对照,测定不同程度(轻度、中度、重度)干旱胁迫下3份材料的叶片含水量(Content of leaf water, LWC)、叶绿素(Chlorophyll, CHL)含量、可溶性糖(Soluble Sugar, SS)含量和丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量以及叶片超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、过氧化物酶(Peroxidase, POD)和过氧

收稿日期:2019-12-17; **修回日期:**2020-01-09

基金项目:甘肃省草地畜牧业可持续发展创新团队项目(2017C-11);国家自然科学基金项目(31760702,31360577);国家重点研发计划(2018YFD0502402-3)

作者简介:杨丹(1993-),女,甘肃皋兰人,在读博士。

E-mail:1152569596@qq.com

杜文华为通讯作者。

E-mail:duwh@gsau.edu.cn

化氢酶(Catalase, CAT)活性,并利用隶属函数法对 3 份红三叶材料的抗旱性进行综合评价,以确定红三叶新品系抗旱性强弱,为红三叶新品种培育奠定基础。

1 材料和方法

1.1 试验地概况

田间试验在甘肃农业大学牧草种质资源圃进行。该试验地位于甘肃农业大学校园内,地理位置 N 36°03', E 103°52', 海拔 1 560 m, 年平均气温 8.5℃, 降水量 380 mm, 蒸发量 1 486.5 mm, 无霜期 171 d。土壤为栗钙土,地势平坦。前茬作物为猫尾草。

1.2 试验材料

供试材料为甘肃农业大学利用澳大利亚红三叶品种 Sensation 和 Renegade 有性杂交培育的红三叶新品系(R),对照品种岷山红三叶(CK1)和甘红 1 号红三叶(CK2)为国家审定登记的适宜于甘肃省种植的红三叶品种。

1.3 试验设计及方法

二因素随机区组试验设计。A 因素为红三叶材料,设 3 个水平,分别为红三叶新品系(R),对照品种岷山红三叶(CK1)和甘红 1 号红三叶(CK2);B 因素为干旱胁迫时间,设 4 个水平,分别为干旱胁迫 0、7、21 和 28 d。采用遮雨棚人工控制降雨法。小区面积为 4 m² (2 m×2 m),3 次重复,小区之间埋深 1.5 m 的聚乙烯塑料隔离层,小区间距 50 cm,以防止侧渗。2017 年 5 月 11 日红三叶进入分枝期时开始干旱胁迫试验。分别在干旱胁迫的第 0、7、21 和 28 d 选取 3 份材料大小一致的下部幼嫩功能叶 3~5 g,测定相应的生理生化指标。

1.4 测定指标与方法

1.4.1 田间持水量 采用环刀法测定^[14]。

1.4.2 土壤含水量 用烘干称重法^[15]测定。土壤含水量占田间持水量 80%以上为正常水分水平,50%~80%为轻度干旱,30%~50%为中度干旱,低于 30%为重度干旱^[16-18]。

1.4.3 生理生化指标测定 叶片含水量采用烘干法测定,叶绿素含量采用丙酮反复提取法测定,丙二醛含量采用硫代巴比妥酸法测定,可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定,叶片超氧化物歧化酶活性用氮蓝四唑法测定,过氧化物酶采用愈创木酚法,过氧化氢酶采用紫

外吸收法测定。以上各指标的测定方法参见植物生理学实验指导^[19]与植物生理学实验分析测定技术^[20]。

1.5 数据统计

采用 Excel 2010 对参试红三叶材料、干旱胁迫时间及红三叶材料与干旱胁迫时间交互作用间的数据求平均值并进行数据整理和做图,利用 SPSS 19.0 进行方差分析,有显著或极显著差异时用 DUNCAN 法进行多重比较。

1.6 综合评价

用以下公式对供试红三叶材料各指标的具体函数值进行计算:

$$U_{ij} = \frac{X_{ij} - X_{j\min}}{X_{j\max} - X_{j\min}} \quad (1)$$

$$U_{ij} = \frac{X_{j\max} - X_{ij}}{X_{j\max} - X_{j\min}} \quad (2)$$

式中: U_{ij} 为红三叶材料第 j 个指标的隶属函数值, X_{ij} 为红三叶材料第 j 个指标的测定值, $X_{j\min}$ 为各红三叶材料 j 性状的最小值, $X_{j\max}$ 为各红三叶材料 j 性状的最大值。当 j 性状与植物的抗旱性成正相关时,用(1)式;当 j 性状与植物抗旱性成负相关时用(2)式。

把每个红三叶材料各个性状的具体抗旱隶属值进行累加,并求出平均值:

$$\bar{U} = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n X_{ij} \quad (3)$$

式中, U_i 为红三叶材料的抗旱隶属函数平均值, U_i 越大,抗旱性越强;反之越小^[21]。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫对土壤含水量的影响

不同干旱胁迫时间 0~20 cm 土层土壤含水量占田间持水量的比例不同,干旱胁迫 7 d 为轻度干旱,14~21 d 为中度干旱,胁迫 28 d 为重度干旱(表 1)。

2.2 干旱胁迫对红三叶材料生理生化指标的影响

红三叶材料间,除 LWC 和 CAT 活性无显著差异外,CHL,SS,MDA 含量及叶片 SOD 和 POD 活性均存在极显著差异($P < 0.01$);不同干旱胁迫时间,所测生理生化指标均存在极显著差异($P < 0.01$);红三叶材料与干旱胁迫时间交互作用间,叶片 POD 和 CAT 的活性差异显著,LWC、CHL、SS 和 MDA 含量及叶片 SOD 活性的差异极显著($P < 0.01$)(表 2)。需对上述存在显著或极显著的指标进行多重比较。

表 1 不同干旱胁迫时间下土壤含水量占田间持水量的比例及干旱程度

Table 1 Ratio of the soil moisture to the field water holding capacity and the degree of the drought stress under different drought stress days

干旱胁迫时间/d	土壤含水量占田间持水量比例/%	干旱程度
0	80.01	正常水分
7	58.82	轻度干旱
14	34.38	中度干旱
21	32.03	中度干旱
28	27.32	重度干旱

表 2 红三叶材料间、干旱胁迫天数间及红三叶材料(干旱胁迫时间交互作用间)叶片含水量、叶绿素、可溶性糖、MDA、POD、SOD、CAT 的方差分析

Table 2 Variance analysis of contents of water, chlorophyll, soluble sugar, MDA, POD, SOD and CAT in red clover leaf

生理生化指标	F 值						
	LWC	CHL 含量	SS 含量	MDA 含量	SOD 活性	POD 活性	CAT 活性
红三叶材料间	0.23	5.91**	11.10**	29.35**	66.57**	135.93**	0.94
干旱胁迫时间	89.96**	23.48**	11.02**	271.76**	78.67**	33.78**	47.07**
材料×干旱胁迫时间	16.78**	15.26**	260.86**	9.68**	13.35**	3.22*	4.66*

注: * 表示差异达显著水平($P < 0.05$); ** 表示差异达极显著水平($P < 0.01$), 下同

表 3 红三叶材料间、干旱胁迫时间间的生理生化指标

Table 3 Differences of the physiological and biochemical indexes among red clover materials and drought stress days

变量	LWC/%	CHL 含量/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	SS 含量/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	MDA 含量/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)	SOD 活性/ ($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	POD 活性/ ($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	CAT 活性/ ($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	
材料间	R	62.71±1.85 ^a	3.16±0.12 ^b	2.38±0.16	11.35±0.95 ^a	487.13±19.51 ^a	399.51±14.40 ^a	545.96±23.78 ^a
	CK1	60.27±3.45 ^a	2.56±0.17 ^c	1.77±0.06 ^b	10.59±0.88 ^b	474.12±20.63 ^a	356.09±16.02 ^c	530.08±25.20 ^a
	CK2	60.90±2.35 ^a	3.30±0.19 ^a	2.63±0.15 ^a	10.50±0.89 ^b	408.25±4.95 ^b	373.83±10.70 ^b	554.37±40.56 ^a
干旱胁迫时间/d	0	72.82±0.73 ^a	3.57±0.15 ^a	1.72±0.06 ^b	8.11±0.22 ^d	383.44±9.08 ^c	320.95±8.50 ^d	414.17±12.49 ^d
	7	64.77±0.77 ^b	3.28±0.09 ^b	2.05±0.10 ^b	9.06±0.12 ^c	497.37±21.65 ^a	390.92±7.13 ^b	574.04±29.92 ^b
	21	56.88±1.09 ^c	2.99±0.11 ^c	2.51±0.17 ^a	10.28±0.23 ^b	494.13±18.92 ^a	439.04±8.91 ^a	656.03±15.71 ^a
	28	50.70±1.34 ^d	2.19±0.14 ^d	2.77±0.19 ^a	15.79±0.25 ^a	451.07±12.38 ^b	356.00±7.61 ^c	529.63±12.49 ^c

注: 同一指标同列不同字母表示差异显著($P < 0.05$)

同胁迫时间, 3 份红三叶材料的平均 SS 和 MDA 含量各不相同, 但总体变化趋势一致, 即随着胁迫程度加剧, 两个指标均不断升高, 重度干旱(第 28 d)达到最大值, 且显著高于轻度干旱(第 7 d)。随着胁迫时间增加, 叶片 SOD、POD 及 CAT 活性先升高后下降, 其中, 叶片的平均 SOD 活性在轻度干旱(第 7 d)时最大, 而 POD 及 CAT 活性在中度干旱(第 21 d)时最大, 并显著高于其他各胁迫时间(表 3)。

2.2.1 红三叶材料间生理生化指标的差异 不同干旱胁迫下 3 份红三叶材料中 R 的 CHL 含量显著高于 CK1, 但显著低于 CK2; SS 含量略低于 CK2, 但显著高于 CK1; MDA 含量显著高于两个对照, CK2 的 MDA 含量最低, CK1 居中; SOD 活性略高于 CK1, 但显著高于 CK2; POD 活性显著高于两个对照, 以 CK1 最低(表 3)。

2.2.2 干旱胁迫时间(干旱程度)间红三叶材料生理生化指标的差异 随着胁迫时间的增加, 3 份红三叶材料的 LWC 和 CHL 含量逐渐降低, 且胁迫处理后均显著低于第 0 d, 重度干旱(第 28 d)时达到最小值。不

2.2.3 红三叶材料×干旱胁迫时间交互作用间生理生化指标的差异

1) LWC 干旱胁迫第 0 d, R 的 LWC 略低于 CK2, 显著低于 CK1; 随着干旱胁迫时间的延长, 3 份红三叶材料的 LWC 均呈下降趋势, 除轻度干旱(第 7 d)红三叶新品系 R 的 LWC 略低于 CK1 外, 中度(21 d)和重度(28 d)干旱胁迫下 R 的 LWC 均显著或不显著高于 CK1 和 CK2(图 1A)。

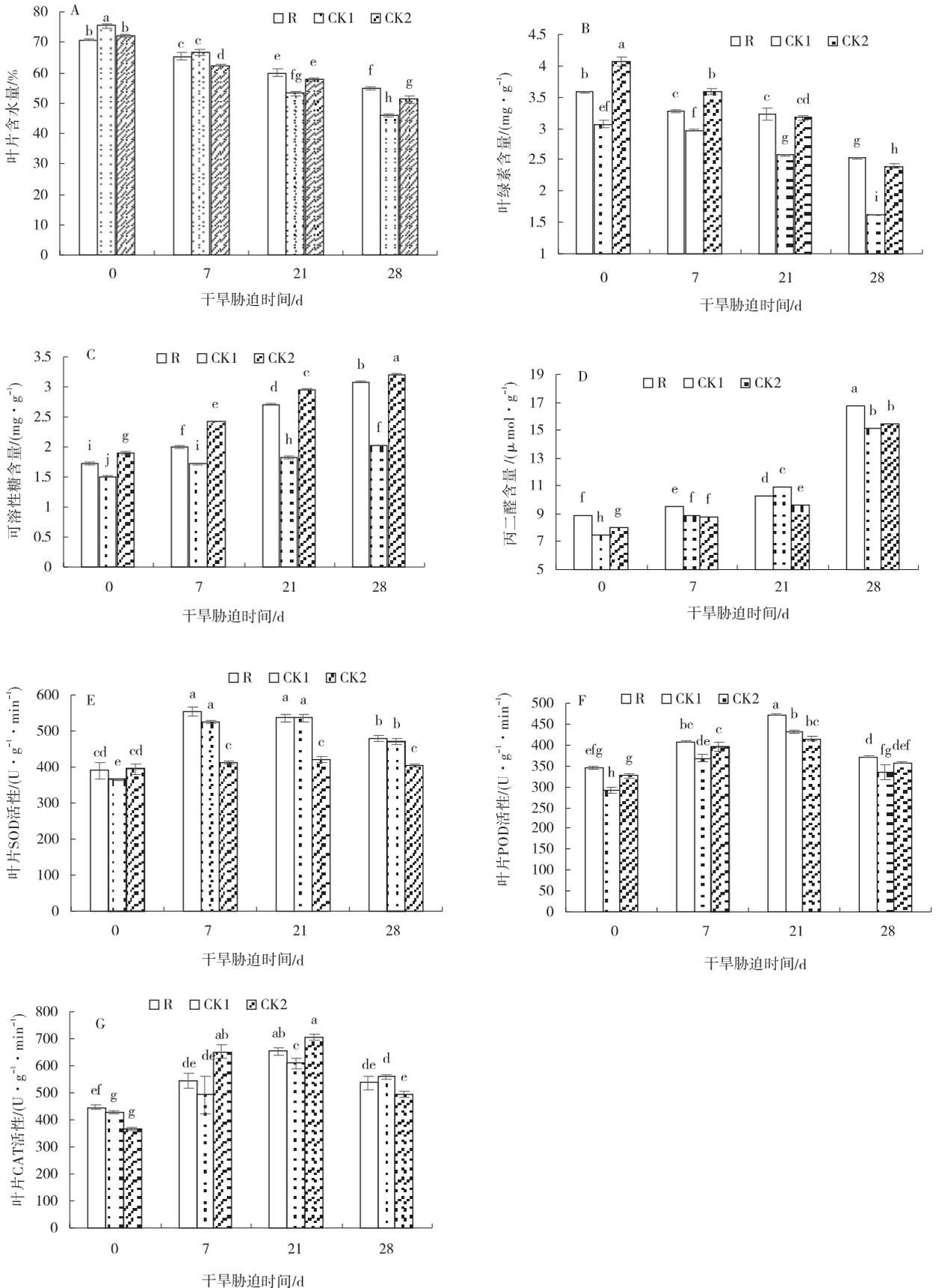


图 1 红三叶材料×干旱胁迫时间交互作用间生理生化指标

Fig. 1 Physiological and biochemical indexes in red clover under the interaction between materials and drought stress days

注:同一指标的不同柱形图间不同字母表示差异显著

2)CHL 第 0 d 和轻度干旱(7 d)时,R 的 CHL 含量均显著低于 CK2,高于 CK1;中度干旱(第 21 d),R 的 CHL 含量显著高于 CK1,略高于 CK2;重度干旱(第 28 d)时,R 的 CHL 含量显著高于两个对照(图 1B)。

3)SS 含量 无论是正常水分还是干旱胁迫,R 的 SS 含量均显著低于 CK2,高于 CK1(图 1C)。

4)MDA 含量 正常水分(第 0 d)和轻度干旱(7 d)时,R 的 MDA 含量均显著高于两个对照材料;中度干旱(第 21 d)时,R 的 MDA 含量显著高于 CK2,但低于 CK1;重度干旱(28 d)时,R 的 MDA 含量显著高于两个对照(图 1D)。

5)SOD 活性 正常水分条件下 R 的 SOD 活性显著高于 CK1,略高于 CK2;干旱胁迫处理下 R 的 SOD 活性均显著高于 CK2,略高于 CK1(图 1E)。

6)POD 活性 正常水分和轻度干旱胁迫(第 7 d)下,R 的 POD 活性显著高于 CK1,略高于 CK2;中度(21 d)和重度干旱胁迫(28 d)时,R 的 POD 活性显著高于两个对照(图 1F)。

7)CAT 活性 正常水分条件下,R 的 CAT 活性显著高于 2 对照材料;干旱胁迫条件下,供试红三叶材料的 CAT 活性变化差异较大,轻度干旱(第 7 d)时 R 的 CAT 活性显著低于 CK2,略高于 CK1;中度干旱(第 21 d)时 R 的 CAT 活性显著高于 CK1,略低于 CK2;重度干旱(第 28 d)时,R 的 CAT 活性略高于 CK2,低于 CK1(图 1G)。

2.3 不同红三叶材料抗旱性综合评价

植物的抗旱性是由多种因素相互作用而构成的一个较为复杂的综合性状,是与抗旱性有关的数量或质量性状综合作用的结果。因此,仅通过单一生理指标判断参试红三叶材料的抗旱能力,得到的抗性结果不一致,需要根据多个性状指标的综合表现才能全面客观评价研究对象的抗旱能力。而隶属函数分析正好满足这一需求^[22]。本试验采用模糊隶属函数法对参试红三叶材料的 LWC、CHL、SS、MDA 含量及 SOD、POD 和 CAT 活性 7 项指标进行抗旱隶属函数值计算,求得隶属平均值,通过隶属平均值进行抗旱性强弱排名(表 4)。结果表明,3 份供试红三叶材料的抗旱性强弱依次为:R>CK2>CK1,说明红三叶新品系 R 具有一定的抗旱潜力。

表 4 不同红三叶材料的抗旱隶属函数值

Table 4 Subordinate function value for drought resistance of red clover

测定指标	供试红三叶材料		
	R	CK1	CK2
LWC	1.00	0.00	0.59
CHL 含量	1.00	0.00	0.85
SS 含量	0.89	0.00	1.00
MDA 含量	1.00	0.00	0.20
SOD 活性	1.00	0.85	0.00
POD 活性	1.00	0.00	0.61
CAT 活性	0.66	1.00	0.00
隶属平均值	0.94	0.26	0.47
排序	1	3	2

3 讨论

3.1 红三叶材料间生理生化指标的差异

在干旱胁迫条件下,不同植物产生的应激反应以及应激速度不同^[23]。大量研究表明,抗旱性强的牧草其 CHL 含量和 SS 含量高于抗旱性弱的牧草,MDA 含量低于抗旱性弱的牧草^[24-26]。当植物遭受干旱胁迫时,SOD、POD 和 CAT 这 3 种保护酶的活性增强,可以使植物细胞免于伤害或抗性增强^[27]。本研究表明,红三叶新品系 R 的 CHL 含量和 SS 含量位于两个对照材料之间,MDA 含量及叶片 SOD 和 POD 活性最高,CK2 的 CHL 含量和 SS 含量最高,说明在干旱胁迫条件下不同红三叶材料的各项生理生化指标不一样(表 3),仅依据单一指标难以衡量其抗旱性强弱。

3.2 干旱胁迫时间(干旱程度)间红三叶材料生理生化指标的差异

植物叶片含水量的高低在一定程度上能反映其叶片保水能力的强弱^[28]。受持续干旱胁迫影响,5 种禾本科牧草的叶片含水量呈下降趋势^[29]。本试验得出,随着干旱胁迫程度加剧,参试红三叶材料的平均 LWC 呈下降趋势,这与前人^[29]研究结果一致。叶绿素的合成与降解受外界环境条件影响,当植物受到干旱胁迫时,光合速率下降,叶绿素含量降低^[30]。随胁迫程度加剧大部分白三叶品种的 CHL 含量呈下降趋势,少部分品种出现先升高后下降的趋势^[31]。燕麦幼苗的叶绿素含量随干旱胁迫程度的加剧和时间延长呈下降趋势^[32]。本研究表明,随着干旱胁迫时间延长,参试红三叶材料的 CHL 含量呈下降趋势,说明干旱使细胞的叶绿体结构和叶绿素合成遭到破坏,导致其分解

速度加快,含量降低^[33]。MDA 含量常作为衡量膜透性发生胁迫性变化的重要生理指标之一^[27]。SS 是植物体细胞内的主要渗透调节物,其含量的多少直接体现细胞受到的干旱胁迫强度^[34]。随着干旱胁迫程度的加剧,红豆草和变异小冠花的 SS 含量、MDA 含量及 SOD 和 CAT 活性呈上升趋势^[35]。本研究结果表明,参试红三叶材料的 MDA 含量和 SS 含量随胁迫时间的延长均呈上升趋势,说明 MDA 含量与植物膜系统的过氧化强度具有紧密联系,同时在受到干旱胁迫时,植物会通过增加 SS 含量等渗透调节物质来降低细胞的渗透势,从而使植物得以正常生长^[33-35]。

SOD、POD 和 CAT 在清除生物活性氧自由基上担负着重要功能^[36]。本研究表明,随着干旱胁迫时间延长,3 份红三叶材料叶片中的 SOD、POD 和 CAT 活性均呈先升高后下降的变化,但变化趋势不完全一致,说明在胁迫初期,植物通过增强 SOD、POD 和 CAT 的活性使植物体内活性氧的产生和清除达到动态平衡,但随着胁迫程度加剧,植物细胞抗氧化能力逐渐减弱,酶活性逐渐降低,导致植物对干旱的适应能力明显下降,不能正常生长^[30]。说明植物受胁迫程度存在阈值,超过阈值幼苗保护酶活性就会下降,幼苗就会受到损害^[29]。

3.3 红三叶材料×干旱胁迫时间交互作用间生理生化指标的差异

不同干旱胁迫程度下,各参试红三叶材料的 LWC 变化幅度不同。其中红三叶新品系 R 的 LWC 变化幅度最小,说明 R 的叶片保水能力最强。干旱胁迫条件下,抗旱性较强牧草品种的 CHL 含量更高^[37-38]。本研究表明,在中度和重度干旱时,3 份参试红三叶材料的 CHL 含量均呈下降趋势,但 R 的 CHL 含量明显高于两个对照,说明 R 的抗旱性最强,这与前人研究结果一致^[37-38]。SS 是细胞中存在的渗透调节物质,对膜和蛋白质起保护作用。MDA 具有很强的细胞毒性,抗旱性越强的植物,MDA 含量越低^[39]。本试验中,无论是正常水分还是干旱胁迫,R 的 SS 含量位于两个对照之间,CK2 的 SS 含量最高,CK1 最低;而 MDA 含量除中度干旱胁迫低于 CK2 外,其他各处理时间中均显著高于两个对照,说明用 SS 和 MDA 含量无法确定 3 份材料的抗旱性强弱。POD 和 CAT 能够协助 SOD 清除活性氧自由基,这 3 种酶共同组成保护酶系统,对于维持细胞膜的稳定性和完整性具有一定

作用^[40-41]。本研究发现,在整个胁迫处理中,红三叶新品系 R 的 SOD 和 POD 活性均高于两个对照。说明红三叶新品系 R 的保护酶活性较高,使活性氧的代谢处于一定水平,能够降低干旱胁迫带来的伤害^[41]。

4 结论

本试验通过研究 3 份红三叶材料在不同干旱胁迫程度(轻度、中度和重度)下的生理生化指标,并采用隶属函数法对参试红三叶材料抗旱性进行综合评价结果表明,红三叶新品系 R 抗旱性最强,其次为甘红 1 号红三叶,岷山红三叶的抗旱性最差。说明红三叶新品系 R 具有一定的抗旱潜力,为抗旱红三叶新品种培育和拓宽红三叶种植区域奠定了基础。

参考文献:

- [1] 邓振镛,倾继祖,黄蕾诺,等. 干旱对农业危害的特点及其减灾技术[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(32): 16177-16179.
- [2] 张俊,刘娟,臧秀旺,等. 不同生育时期水分胁迫对花生生长发育和产量的影响[J]. 中国农学通报, 2015, 31(24): 93-98.
- [3] 王欣. 冀中南夏玉米主要虫害综合防治技术[J]. 现代农村科技, 2014, 9(11): 27-28.
- [4] 赵立琴. 干旱胁迫对大豆抗旱生理指标及产量和品质影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.
- [5] 王尊欣,张树珍. 作物抗旱性及抗旱育种研究进展[J]. 作物杂志, 2014(2): 26-30.
- [6] 何玮,范彦,徐远东,等. 红三叶苗期抗旱性指标筛选及综合评价[J]. 植物遗传资源学报, 2009, 10(4): 572-577.
- [7] 马先锋. 红三叶引种试验研究初报[J]. 草业与畜牧, 2006(6): 10-11.
- [8] 奎嘉祥,钟声,匡崇义,雷得昆. 红三叶在云南的引种研究[J]. 华南农业大学学报, 2004, (2): 52-54.
- [9] 杨连双. 三叶草引种栽培试验[J]. 草原与草业, 2000(2): 58-59.
- [10] 岳燕,杜文华,张自和,等. 灌水和施肥对岷山红三叶生产性能的影响[J]. 草原与草坪, 2007(2): 53-55.
- [11] 宋超,靳晓丽,田新会,等. 不同红三叶品种生产性能及异黄酮含量的比较[J]. 草原与草坪, 2012, 32(5): 47-52.
- [12] 张元科. 蒙农 1 号红三叶特征特性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2014.
- [13] 孔令慧,赵桂琴. 红三叶株型结构与草产量的相关性研究[J]. 草原与草坪, 2013, 33(3): 11-15.

- [14] 王高英,宋志林,罗国政,等. 土壤田间持水量测定对比试验分析[J]. 陕西水利,2011(3):26-28.
- [15] 张学礼,胡振琪,初士立. 土壤含水量测定方法研究进展[J]. 土壤通报,2005,36(1):118-123.
- [16] 韩刚,赵忠. 不同土壤水分下4种沙生灌木的光合响应特性[J]. 生态学报,2010,30(15):4019-4026.
- [17] 张仁和,郑友军,马国胜,等. 干旱胁迫对玉米苗期叶片光合作用和保护酶的影响[J]. 生态学报,2011,31(5):1303-1311.
- [18] 陈丽霞,田新会,杜文华. 甘农1号小黑麦的田间抗旱性研究[J]. 草地学报,2017,25(5):1080-1087.
- [19] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,2003.
- [20] 乔富廉. 植物生理学实验分析测定技术[M]. 北京:中国农业科技出版社,2002.
- [21] 罗尧幸,郭荣荣,李雪雪,等. 基于隶属函数法评价7个鲜食葡萄品种的抗旱性[J]. 贵州农业科学,2018,46(6):38-44.
- [22] 李亮,夏新莉,尹伟伦,等. 用隶属函数法对10个沙棘品种抗旱性的综合评价[J]. 山东林业科技,2007(1):59-60.
- [23] 黄萍,张新俊,朱彬彬,等. 阿拉伯婆婆纳和白三叶对干旱胁迫的生理响应及抗旱性比较[J]. 甘肃农业大学学报,2020,55(2):133-137.
- [24] 徐宗才,田丰,刘云. 不同品种马铃薯叶片生理特性与抗旱性研究[J]. 干旱地区农业研究,2008,26(5):153-155.
- [25] 张卫红,刘大林,苗彦军,等. 西藏3种野生牧草苗期对干旱胁迫的响应[J]. 生态学报,2017,(21):264-272.
- [26] 王剑,周志春,饶龙兵,等. 不同磷效率马褂木种源对磷胁迫的生理反应[J]. 林业科学研究,2006,19(4):527-531.
- [27] 万里强,李向林,石永红,等. PEG胁迫下4个黑麦草品种生理生化指标响应与比较研究[J]. 草业学报,2010,19(1):83-88.
- [28] 孙铁军,苏日古嘎,马万里,等. 10种禾草苗期抗旱性的比较研究[J]. 草业学报,2008,17(4):42-49.
- [29] 刘金龙,王莹,许爱云,等. 干旱胁迫下5种禾本科牧草幼苗期的生理特性[J]. 草业科学,2018,35(5):172-181.
- [30] 冯淑华. 三叶草对干旱胁迫的反应及适应性研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2012.
- [31] 刘晓娇,梁永凯,吴竹妍,等. 14个白三叶草品种抗旱性比较研究[J]. 江西农业学报,2014,26(4):14-18.
- [32] 罗兴雨,李亚萍,陈仕勇,等. 高寒燕麦苗期抗旱性研究[J]. 西南农业学报,2018,31(9):53-58.
- [33] 张力君,易津,贾光宏,等. 9种禾草对干旱胁迫的生理反应[J]. 内蒙古农业大学学报,2000,21(4):14-19.
- [34] 李京蓉,周学斌,马真,等. 6种高寒牧区禾本科牧草抗旱性研究与评价[J]. 草地学报,2018,26(3):659-665.
- [36] 赵雅静,翁伯琦,王义祥,等. 植物对干旱胁迫的生理生态响应及其研究进展[J]. 福建稻麦科技,2009,27(2):45-50.
- [37] 高立杰,李运起,张洪杰,等. 14种紫花苜蓿萌发期抗旱性比较试验[J]. 黑龙江畜牧兽医,2017(15):6-11.
- [39] 任海红,刘学义,李文强,等. 大豆不同时期抗旱鉴定研究进展[J]. 农业科技通讯,2016(8):111-114.
- [40] 黄丽丽. 两种无芒雀麦对旱盐逆境胁迫的响应[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2009.
- [41] 吴永波,叶波. 高温干旱复合胁迫对构树幼苗抗氧化酶活性和活性氧代谢的影响[J]. 生态学报,2016,36(2):403-410.

Study on the drought resistance of new red clover line

YANG Dan, TIAN Xin-hui, DU Wen-hua

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

Abstract: The drought resistance of new red clover line (R) was studied by using *Trifolium pratense* cv. Minshan (CK₁) and Ganhong No. 1 (CK₂) as controls, and the leaf water content (LWC), chlorophyll content (CHL), soluble sugar content (SS), malondialdehyde content (MDA), and activities of superoxide dismutase

(SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) in red clover were measured under different degree of drought stress. Results showed that among 3 materials, the MDA content, activities of SOD and POD in R was the highest. The contents of LWC and CHL of 3 materials decreased gradually with the time of drought stress, contents of MDA and SS increased gradually, and activities of POD, SOD and CAT increased first and then decreased. From the interaction of red clover materials and drought stress days, the LWC and CHL of R varied slightly, while the contents of SS and MDA varied greatly, the activity of SOD and POD in leaves was the highest. Comprehensive evaluation based on the membership function method showed that R had the strongest drought resistance, followed by CK2 and CK1.

Key words: red clover; drought resistance; membership function; comprehensive evaluation

(上接 107 页)

Optimization of soybean meal fermentation conditions by using response surface methodology

YANG Xiao-ting, XU Li, TIAN Yong-qiang

(Academy of Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Soybean meal, bran and molasses were used as raw materials to ferment protein feed with *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*. The effects of inoculation amount, temperature, fermentation time, ratio of raw material to water, amount of bran and molasses on crude protein content were studied through single factor experiment. The response surface method based optimal fermentation conditions were as follows: 25g (90% soybean meal, 7% bran, 3% molasses) loaded raw material, 0.375g MgSO_4 , 0.25 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.25 g urea and 0.25 g K_2HPO_4 ; The ratio of raw material to water was 1:1, and the microbial inoculation amount was 16%; The fermentation temperature and time were 33.2°C and 86.6 hours. Under the optimal fermentation conditions, the crude protein and true protein content reached 57.59% and 53.65% respectively, which was 17.42% and 24.59% higher than the control. The number of viable microbe reached 3.62×10^9 cfu/g. Urease activity decreased by 92.41%. The optimized combined fermentation could effectively increase the protein content, degrade the macromolecular protein and antigen protein, and improve digestibility of soybean meal, which was suitable for the industrial production of soybean meal fermentation.

Key words: soybean meal; *Aspergillus niger*; *Saccharomyces cerevisiae*; solid state fermentation; response surface