

优质牧草旋扭山绿豆对低温胁迫的生理响应及其耐寒性快速鉴定

余涵霞¹, 姜朝阳¹, 王纯¹, LIN Yi-han², 纪雅萍¹, 李伟华^{1*}

(1. 华南师范大学生命科学学院, 广东省华南牧草工程技术研究中心, 广东省高等学校生态与环境科学重点实验室, 广州 510631; 2. Agriculture Victoria, AgriBio, Centre for AgriBioscience, Victoria 3086, Australia)

摘要: 为了解旋扭山绿豆(*Desmodium intortum*)对低温的耐受性, 以在南方各省广泛种植的优质牧草紫花大翼豆(*Macroptilium atropurpureum*)为对照, 研究了旋扭山绿豆对低温胁迫的生理响应。结果表明, 低温胁迫(4℃)下, 旋扭山绿豆的实际光能转化效率(Yield)和光合电子传递效率(ETR)在第2~8天时下降幅度显著低于紫花大翼豆($P < 0.05$)。低温处理使旋扭山绿豆和紫花大翼豆超氧化物歧化酶(SOD)活性显著增加($P < 0.05$); 过氧化氢酶(CAT)活性则显著降低; 旋扭山绿豆的过氧化物酶(POD)没有显著变化($P > 0.05$), 但紫花大翼豆下降了47.11%。低温处理下旋扭山绿豆游离脯氨酸和可溶性糖含量显著高于紫花大翼豆($P < 0.05$)。回归分析、抵抗力指数和营养成分分析表明, 旋扭山绿豆是一种抗寒性与营养价值均优于紫花大翼豆的优良牧草, 其中Yield、ETR、CAT与渗透调节物质(游离脯氨酸和可溶性糖)可以作为旋扭山绿豆耐寒性鉴定的重要生理指标。

关键词: 旋扭山绿豆; 生物量; 叶绿素荧光参数; 过氧化物酶; 游离脯氨酸; 可溶性糖; 低温胁迫

doi: 10.11926/jtsb.4046

Physiological Response of High Quality Forage *Desmodium intortum* to Low Temperature Stress and Rapid Identification of Its Cold Tolerance

YU Han-xia¹, JIANG Chao-yang¹, WANG Chun¹, LIN Yi-han², JI Ya-ping¹, LI Wei-hua^{1*}

(1. School of Life Sciences, South China Normal University, Guangdong Provincial Engineering Technology Research Center for Southern China Forage, Key Laboratory of Ecology and Environmental Sciences in Guangdong Higher Education, Guangzhou 510631, China; 2. Agriculture Victoria, AgriBio, Centre for AgriBioscience, Victoria 3086, Australia)

Abstract: In order to rapidly identify the tolerance to low temperature of *Desmodium intortum*, the physiological response to low temperature stress (4°C) was studied by comparing with *Macroptilium atropurpureum*, a high quality forage widely planted in southern provinces in China. The results showed that under low temperature stress, the effective quantum yield (Yield) and electron transfer rate (ETR) from the 2nd to 8th day decreased significantly in *M. atropurpureum* than those in *D. intortum* ($P < 0.05$). The superoxide dismutase (SOD) activity increased and catalase (CAT) activity decreased significantly ($P < 0.05$) for both *D. intortum* and *M. atropurpureum* under low temperature stress. Specifically, the decrease of CAT activity in *D. intortum* was lower than that in *M. atropurpureum*. The peroxidase (POD) activity of *D. intortum* did not change ($P > 0.05$) under low temperature, while POD activity in *M. atropurpureum* decreased by 47.11%. The contents of free proline (Pro) and soluble sugar were significantly higher in *D. intortum* than those in *M. atropurpureum* ($P < 0.05$) under low temperature.

收稿日期: 2019-01-25 接受日期: 2019-03-11

基金项目: 广东省自然科学基金项目(2016A030313424); 华南师范大学研究生创新计划项目(2018LKXM017); 国家重点研发计划项目(2017YFC1200105)资助

This work was supported by the Natural Science Foundation of Guangdong (Grant No. 2016A030313424), the Graduate Innovation Program of South China Normal University (Grant No. 2018LKXM017), the National Key Research and Development Program of China (Grant No. 2017YFC 1200105).

作者简介: 余涵霞(1993~), 女, 硕士研究生, 主要从事植物生理与土壤微生物方向的研究。E-mail: 1053932574@qq.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: whli@scnu.edu.cn

According to regression analysis, resistance index and nutrient composition analysis, *D. intortum* was superior to *M. atropurpureum* in cold resistance and nutritional value. Furthermore, Yield, ETR, CAT, Pro and soluble sugar of *D. intortum* could be used as important physiological indexes for identification of cold tolerance.

Key words: *Desmodium intortum*; Biomass; Chlorophyll fluorescence parameters; Peroxidase; Free proline; Soluble sugar; Low temperature

我国是典型的农业大国,畜牧业是我国农业的重要组成部分,优良牧草草种选育是草食畜牧业的发展关键^[1],而目前饲料粮短缺已经成为我国粮食安全问题上亟需解决的重要问题^[2]。旋扭山绿豆(*Desmodium intortum*),又名绿叶山绿豆、绿叶山蚂蝗,是华南师范大学生物固氮专家莫熙穆教授 1979 年从澳大利亚引种的一种具有饲料、绿肥、水土保持兼用的多年生草本豆科牧草^[3]。上个世纪 80-90 年代,旋扭山绿豆曾在广东鉴江流域被推广应用^[3],但之后并未在南方各省推广开来。其中低温可能是限制其推广应用的重要因素之一。而低温胁迫是牧草栽培中遇到的常见灾害之一,它不仅会对植物生长造成严重损伤,甚至会引起植株死亡,在生产上造成严重损失^[4]。我国南方地区水热条件优越,适宜农作物种植。但是许多热带亚热带牧草仍然会出现冬季生长缓慢甚至停止生长的现象,从而导致冬季青饲料供应的短缺^[5]。且近年来全球极端气候频发,南方多次出现强降雨、雪天气,对农牧业生产造成极大损失^[6],如 1999、2016 年的寒害分别给广东农业生产造成 108 和 61 亿元的巨大损失^[7-8]。随着最低气温变化的不稳定性增加,极端寒害的影响将会进一步加重^[9]。因而在优质冬青饲料草种缺乏的背景下^[5],研究引种牧草旋扭山绿豆对低温的耐受性非常必要,有助于解决人畜争粮的矛盾,也对更好地发展畜牧业及保护生态环境具有重要的指导意义。

很多研究表明,低温逆境下植物可提高抗氧化酶活性并且主动积累更多的亲水性渗透物质,这些物质的大量积累一方面可以清除大量有害的活性氧自由基,另一方面能够增强细胞的保水能力,从而维持细胞渗透平衡以适应胁迫生境,与植物的抗寒性密切相关^[10-13]。而叶绿素荧光参数也有助于探明光合机构受逆境胁迫伤害的部位和程度^[14]。但是目前对旋扭山绿豆的研究主要在引种栽培技术^[3,15]、营养器官及品质评价^[16-18]、根瘤菌的抗碱性与共生固氮^[19]、结瘤因子与诱导表达^[20-21]、作物间作^[22]、养分与微生物互作^[23]和果园套种对害虫的生态防控^[24-25]等方面。最近虽有研究表明,旋扭山绿豆可在广州

冬季保持青绿越冬,具有较强的抗寒性^[4],但尚未见旋扭山绿豆对低温胁迫生理响应的报道。

在引种和培育抗寒品种过程中,确立评价植物抗寒性的方法是其中的重要环节。目前植物抗寒性鉴定常用的方法主要有电导率法、组织褐变法和 2,3,5-氯化三苯基四氮唑还原法^[26]。但这些生化指标测定不仅操作繁琐,还会损害植物,所以不适合作为植物抗寒性的快速鉴定方法进行推广。叶绿素荧光技术由于其操作简单,在植物抗冷性、抗冻性方面的研究逐渐增多。这一技术已在杏树(*Prunus armeniaca*)幼苗^[27]和冬小麦(*Triticum aestivum*)^[28]等植物抗寒性检测中得到应用。同样抗氧化酶活性和渗透调节物质含量可以在短时间内反映胁迫强度,高灿红等^[29]对玉米(*Zea mays*)的研究也证实了这一观点。因此,本文以在南方 5 省(海南、广西、广东、福建和江西)广泛种植的豆科牧草紫花大翼豆(*Macroptilium atropurpureum*)^[30]为对照,通过测定旋扭山绿豆在低温胁迫下叶绿素荧光参数、抗氧化酶活性和渗透调节物质的变化,探讨旋扭山绿豆抗寒的生理机制,试图寻找旋扭山绿豆耐寒性快速鉴定的生理指标,并为今后深入开展其耐低温的育种工作和进一步向北推广应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料和处理

旋扭山绿豆种子来自广东省华南牧草工程技术研究中心,紫花大翼豆种子来自海南省热带作物研究所。经萌发培养幼苗至 15~20 cm,选取生长健壮、长势一致的实生苗,移栽到塑料培养盆中(直径 8 cm,高 10 cm),每盆 1 株。基质采用营养土/沙土(体积比 1:1)的混合物。定植 1 周后,置于光照培养箱内(RXZ 智能型,宁波江南仪器厂)培养,光照周期 12 h (7:00-19:00),黑暗周期 12 h (19:00-7:00),光照强度 275 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$,培养温度 25 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 65%。预培养 72 h 后取出部分植物置于另一培养箱进行低温(4 $^{\circ}\text{C}$)处理,培养条件相同。每处

理 12 盆重复, 共计 48 盆。

1.2 方法

叶绿素荧光参数的测定 在培养前及处理后每隔 2 d 测定叶片的叶绿素荧光参数(脉冲调制荧光仪 PAM-2100, Walz, Effeltrich, Germany)。选取各处理植株上层同一叶位的叶片进行测定, 每处理 4 株。测定前叶片经过 30 min 的充分暗适应, 测定初始荧光 F_0 和最大荧光 F_m , 光化光强度为 $400\sim 450 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 。最大光化学效率 F_v/F_m 、实际光能转化效率(Yield)和光合电子传递效率(ETR)根据 Gray 和 Schreiber 的公式进行计算^[31-32]。第 12 天(当 2 种植物在低温下 Yield 和 ETR 下降至同一水平时)后停止测定, 共测得 0、2、4、6、8、10、12 d 的叶绿素荧光参数。

抗氧化酶活性的测定 在低温处理第 8 天(当 Yield 和 ETR 下降幅度开始缩小时)采集植株顶端第 3 叶位的叶片, 称取 0.1 g 叶片, 加入 1.0 mL 酶提取缓冲液, 研磨成浆。在 4°C 下 $24 \times 148.8 \times \text{g}$ 离心 20 min, 取 50 mL 酶液, 用 50 mmol L^{-1} PBS (pH 7.8)定容至 1 mL 后置于冰上, 用于测定抗氧化酶活性。采用氨基四唑(NBT)法测定 SOD 活性^[33], 过氧化氢法测定 CAT 活性^[34], 愈创木酚法测定 POD 活性^[35]。每处理 4 个重复。

渗透调节物质含量的测定 低温处理第 8 天采集植株顶端第 3 叶位的叶片, 称取叶片 0.2 g, 采用磺基水杨酸法^[35]测定游离脯氨酸含量, 采用硫代巴比妥酸法^[36]测定可溶性糖含量。每处理 4 个重复。

生物量的测定 低温处理结束(12 d)后, 对未采集叶片的 4 株(4 个重复)进行收获。收获根系时

小心敲碎土壤, 以减少对根系的破坏。将地上部分和地下部分分别装入不同的信封中, 置于 75°C 烘箱烘干, 分别称地上部分与地下部分的干质量。地上部分与地下部分的干质量之和即为总生物量。

抵抗力指数(resistance index, RS) 采用 $RS(t_x) = 1 - 2|D_x| / (C_x + |D_x|)$ 计算, 其中, C_x 表示受到低温胁迫 x 天后对照组的值, D_x 表示处理组与对照组的差值^[37]。

1.3 数据的统计分析

实验数据采用 SPSS 18.0 软件进行统计分析。对叶绿素荧光参数(F_v/F_m 、Yield 和 ETR)、抗氧化酶(SOD、CAT 和 POD)和渗透调节物质(游离脯氨酸和可溶性糖)进行方差分析, 采用 Duncan 法进行多重比较($P < 0.05$); 对抵抗力指数进行 t 检验($P < 0.05$); 对低温下的叶绿素荧光参数等 8 个生理指标分别与总生物量进行一元线性回归分析, 探讨他们之间的相关关系。采用 Origin 8.5 软件进行绘图。

2 结果和分析

2.1 植物生物量的变化

低温(4°C)持续胁迫 12 d 后与室温(25°C)处理相比, 旋扭山绿豆和紫花大翼豆的地上部分生物量、地下部分生物量和总生物量均显著下降(图 1), 旋扭山绿豆分别降低了 25%、23%和 23%, 而紫花大翼豆则降低了 33%、39%和 38%, 表明 2 种牧草植物的耐低温能力都有限, 但显然旋扭山绿豆受低温的影响较小, 生物量下降较小是其耐低温的综合体现。

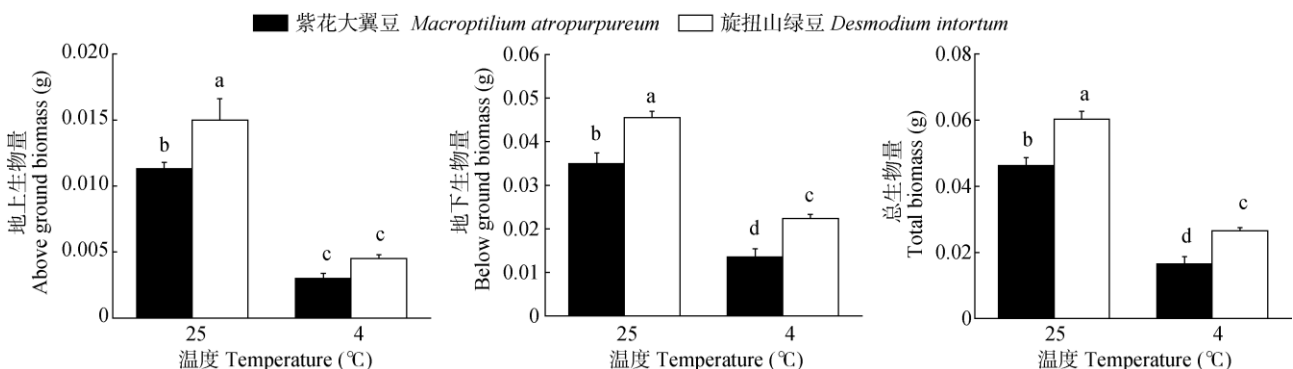


图 1 旋扭山绿豆在低温(4°C)下生物量的变化。 $n=4$; 柱上不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。图 3, 4 同。

Fig.1 Change in biomass of *Desmodium intortum* under low temperature (4°C). $n=4$; Different letter upon column indicate significant difference at 0.05 level.

The same is Figures 3, 4.

2.2 叶绿素荧光参数的变化

由图 2 可以看出, 低温(4℃)持续胁迫 12 d 后, 旋扭山绿豆和紫花大翼豆的最大光化学效率(F_v/F_m)随胁迫时间的延长而下降, 且均达差异显著性水平 ($P < 0.05$), 说明低温处理后二者的光系统 II (PS II) 功能受损。旋扭山绿豆的 Yield 和 ETR 在低温处理前 8 d 下降的幅度均显著低于紫花大翼豆, 旋扭山绿豆的 Yield 在低温处理的第 2、4、6、8 天分别下降了

12%、9%、25% 和 51% [平均下降(24.25 ± 9.56)%], 而紫花大翼豆分别下降了 38%、56%、57% 和 69% [平均下降(55.00 ± 6.39)%]。旋扭山绿豆的 ETR 在低温处理的第 2、4、6、8 天分别下降 18%、15%、25% 和 49% [平均降幅(26.75 ± 7.71)%], 而紫花大翼豆分别下降 39%、54%、56% 和 66% [平均降幅(53.75 ± 5.57)%]。在低温处理 10~12 d 二者的下降幅度趋于相同, 说明紫花大翼豆对低温胁迫更为敏感。

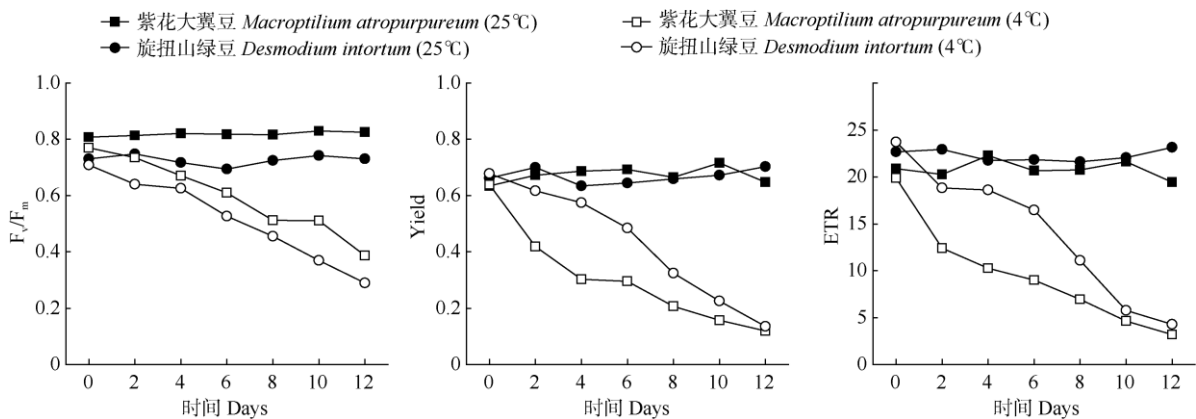


图 2 旋扭山绿豆在低温(4℃)下叶绿素荧光参数的变化。n=4。

Fig. 2 Changes in chlorophyll fluorescence parameters of *Desmodium intortum* under low temperature (4°C). n=4.

2.3 抗氧化酶活性的变化

从图 3 可见, 旋扭山绿豆的 SOD 活性显著高于紫花大翼豆, 但低温处理后两者的 SOD 活性增加幅度相差不大, 分别增加了 8.88% 和 8.05%。而

低温胁迫下, 2 种牧草的 CAT 活性均显著降低, 分别降低了 49.71% 和 73.42%, 紫花大翼豆的下降幅度更大。低温处理下旋扭山绿豆的 POD 活性变化不明显, 但紫花大翼豆的显著下降, 下降了 47.11%。

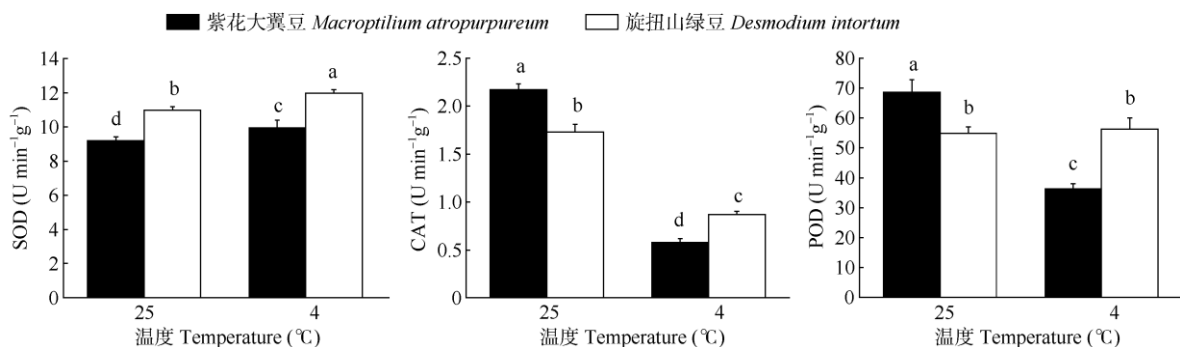


图 3 旋扭山绿豆在低温(4℃)下的抗氧化酶活性。n=4。

Fig. 3 Changes in antioxidant activities of *Desmodium intortum* under low temperature (4°C). n=4.

2.4 渗透调节物质的变化

游离脯氨酸和可溶性糖是植物细胞内重要的渗透调节物质。从图 4 可见, 低温显著提高了 2 种牧草叶片中游离脯氨酸和可溶性糖含量, 但旋扭山绿豆的增加幅度更大, 分别提高了 5.24 和 1.41 倍,

而紫花大翼豆分别提高了 3.20 和 0.77 倍。

2.5 回归分析

一元线性回归分析表明, 除 F_v/F_m 外, 其他生理指标(Yield、ETR、SOD、CAT、POD、游离脯氨酸

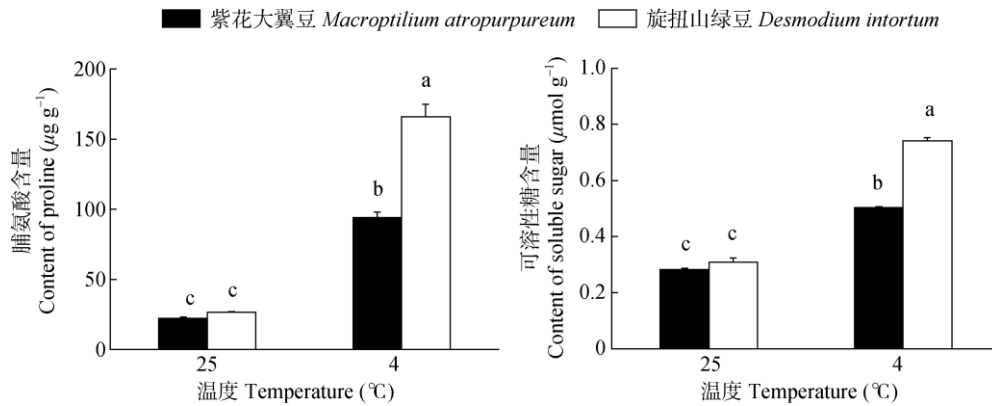


图 4 旋扭山绿豆在低温(4°C)下渗透调节物质含量的变化。n=4。

Fig. 4 Change in content of osmotic regulators in *Desmodium intortum* under low temperature (4°C). n=4.

和可溶性糖)均与总生物量呈极显著正相关($R^2 > 0.73, P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), 且 Yield、ETR、SOD 和游离脯氨酸与总生物量的相关性最强($R > 0.91, P < 0.01$) (表 1)。

2.6 抵抗力指数的比较

低温处理后, 旋扭山绿豆的 F_v/F_m 、SOD和POD的抵抗力指数均与紫花大翼豆的差异不显著, 但总生物量、Yield、ETR、CAT、Pro和可溶性糖含量的

抵抗力指数均极显著高于紫花大翼豆(表2)。

2.7 营养成分的比较

经查阅文献, 旋扭山绿豆^[17]的粗蛋白(20.47%)、粗脂肪(5.89%)、无氮浸出物(43.98%)和粗灰分(9.33%)都高于紫花大翼豆(分别为17.7%、4.9%、32.3%和7.8%)^[38], 而粗纤维含量(20.33%)则大幅度低于紫花大翼豆(37.3%), 且旋扭山绿豆的所有营养指标都更接近于优良饲草标准指数^[39]。

表 1 低温下 2 种牧草生理指标与总生物量的线性回归分析

Table 1 Linear regression analysis between total biomass and physiological indexes of two forages under low temperature (4°C)

	相关系数 R Correlation coefficient	判定系数 R^2 Coefficient of determination	F	P	回归方程 Regression equation	t
F_v/F_m	0.488	0.238	1.874		$y = 0.150 - 0.182x$	-1.369
Yield	0.928	0.861	37.100	**	$y = -0.012 + 0.099x$	6.091
ETR	0.950	0.902	54.964	***	$y = -0.018 + 0.003x$	7.414
SOD	0.908	0.825	28.266	**	$y = -0.108 + 0.013x$	5.317
CAT	0.895	0.800	24.038	**	$y = -0.032 + 0.087x$	4.903
POD	0.853	0.728	16.085	**	$y = -0.023 + 0.001x$	4.011
Pro	0.926	0.858	36.287	**	$y = -0.017 + 0.000x$	6.024
可溶性糖 Soluble sugar	0.888	0.789	22.446	**	$y = -0.032 + 0.101x$	4.738

** : $P < 0.01$; *** : $P < 0.001$

表 2 旋扭山绿豆和紫花大翼豆对低温胁迫的抵抗力指数

Table 2 Resistance indexes in *Desmodium intortum* and *Macroptilium atropurpureum* under low temperature stress

	紫花大翼豆 <i>M. atropurpureum</i>	旋扭山绿豆 <i>D. intortum</i>		紫花大翼豆 <i>M. atropurpureum</i>	旋扭山绿豆 <i>D. intortum</i>
总生物量 Total biomass	0.38 ± 0.03	0.70 ± 0.03**	CAT	0.15 ± 0.02	0.34 ± 0.05**
F_v/F_m	0.69 ± 0.04	0.78 ± 0.03	POD	0.53 ± 0.01	0.50 ± 0.05
Yield	0.29 ± 0.04	0.84 ± 0.07**	Pro	0.52 ± 0.06	0.68 ± 0.03**
ETR	0.30 ± 0.02	0.76 ± 0.08**	可溶性糖 Soluble sugar	0.18 ± 0.06	0.22 ± 0.04**
SOD	0.86 ± 0.10	0.84 ± 0.01			

** : $P < 0.01$; n=4

3 讨论和结论

3.1 低温胁迫对叶绿素荧光参数的影响

低温使植物利用光能的能力降低,而这种变化可通过测定叶绿素荧光简便快速地反映出来。 F_v/F_m 是植物在暗适应状态下的 PS II 最大光化学量子产量,反映了 PS II 反应中心内禀光能转换效率,即 PS II 最大的光能转换效率^[40]。Yield 表示植物光合作用的实际光化学量子效率,能够反映植物的 PS II 反应中心在部分关闭情况下的实际原初光能捕获效率^[41]。ETR 反映了植物叶片的表现光合电子传递速率,与植物的净光合速率呈正相关^[42]。本研究表明,低温胁迫下,旋扭山绿豆的 F_v/F_m 、Yield、ETR 均随低温胁迫时间的延长而显著下降,表明低温胁迫导致 PS II 反应中心受损,旋扭山绿豆利用光能的能力降低,叶片 PS II 的受伤害程度随处理时间的延长而加剧,进一步影响了光能转化为电势能,使叶绿体光合链上电子传递速率受到抑制,ETR 和 Yield 变小,这与廖德宝等^[43]对广西帽儿山的常绿和落叶阔叶林的研究结果一致。吴雪霞等^[42]对茄子 (*Solanum melongena*) 幼苗的研究也表明,低温胁迫导致 F_v/F_m 下降,且下降趋势随着胁迫时间的延长而加剧;孙蓓育等^[44]对南美蟛蜞菊 (*Wedelia trilobata*) 和蟛蜞菊 (*W. chinensis*) 的研究也表明低温胁迫导致 F_v/F_m 、Yield、ETR 显著下降。本研究中,低温处理使旋扭山绿豆的 Yield 和 ETR 下降幅度显著低于紫花大翼豆,显示旋扭山绿豆受低温影响较小。

3.2 低温胁迫对叶片抗氧化酶活性的影响

在正常环境下,植物的活性氧代谢及其清除系统维持着一定的平衡状态^[45]。而低温逆境导致植物体内活性氧代谢平衡被破坏而产生大量自由基,叶绿体和线粒体产生的主要活性氧有超氧阴离子(O_2^-)和 H_2O_2 , SOD 能通过歧化 O_2^- 生成 H_2O_2 和 O_2 , 降低 O_2^- 对植物的毒害作用,而 CAT 和 POD 可以进一步清除 H_2O_2 , 将其分解为完全无害的水,从而提高植物的抗逆性^[46]。有研究表明,核桃 (*Juglans regia*) 哈特雷品种的 SOD、CAT 和 POD 活性随低温胁迫时间呈先上升再下降的趋势,通过清除活性氧、防止膜质过氧化,降低了细胞结构中对低温最敏感的部位叶绿体和质膜的破坏程度,从而表现出较强抗寒性^[47]。付娟娟等^[45]对 2 种垂穗披碱草 (*Elymus nutans*) 的研究表明, SOD、CAT 和 POD 活性的增

强有效清除了植物体内积累的活性氧,从而减轻了细胞膜系统受损伤的程度;同时其相对较高的叶绿素和类胡萝卜素含量也有助于提高其抗寒能力。陈茜等^[10]的研究表明,北美冬青 (*Ilex verticillata*) 可以通过保护酶活性 (SOD、POD) 的维持或增加,进一步提高抗氧化物质的含量(还原型抗坏血酸 AsA、还原型谷胱甘肽 GSH) 来清除过量活性氧,从而减轻低温对细胞的伤害。叶艳然等^[48]对 4 种野生苔草属植物 (*Carex rigescens*、*C. lancifolia*、*C. leucochlora* 和 *C. humilis*) 的研究也表明, SOD 活性与其抗寒性密切相关。在本研究中,低温处理 12 d 后,旋扭山绿豆叶片的 SOD 活性显著提高,可歧化体内存在的 O_2^- , 虽然其叶片的 CAT 活性下降,但 POD 活性在低温下略有上升,可以及时清除 SOD 歧化 O_2^- 而产生的 H_2O_2 , 从而减轻了低温胁迫的危害。而且,虽然紫花大翼豆的 SOD 变化与旋扭山绿豆相似,但 CAT 和 POD 的活性均下降,且 CAT 下降幅度更大,是旋扭山绿豆下降幅度的 1.48 倍。可见,与紫花大翼豆相比,旋扭山绿豆对低温胁迫具有较强的抗氧化能力。

3.3 低温胁迫对叶片渗透调节物质含量的影响

低温逆境一方面会降低植物对水分的吸收,造成植物细胞水分亏缺,另一方面会主动积累亲水性渗透物质,从而维持细胞渗透平衡以适应胁迫生境^[10]。Pro 和可溶性糖被认为是植物体内主要的渗透调节保护物质。已有的研究表明低温胁迫可诱发植物体内脯氨酸和可溶性糖大幅度升高来提高自身对逆境的适应性^[11-13], Pro 与可溶性糖的积累与植物的抗寒性呈显著正相关^[13,49-51]。张尚雄等^[52]对 3 种披碱草属牧草抗寒性的研究也表明, Pro 和可溶性糖含量随低温胁迫程度的加剧而逐渐增加。本研究中,旋扭山绿豆的 Pro 和可溶性糖含量在低温处理后显著增加,说明他们在应对低温胁迫造成的伤害时,起到了平衡细胞代谢、提高植物保水能力的重要作用,从而增强了自身的抗寒性。而且,低温下旋扭山绿豆叶片中的 Pro 和可溶性糖含量分别提高 5.24 和 1.41 倍,分别约为紫花大翼豆增幅的 1.64 和 1.83 倍。因此从渗透调节物质来看,旋扭山绿豆的抗寒性更强。

3.4 回归分析与抵抗力指数分析

回归分析显示,低温下 2 种牧草的叶绿素荧光

参数(Yield 和 ETR)、抗氧化酶活性(SOD、CAT 和 POD)和渗透调节物质(Pro 和可溶性糖含量)与总生物量呈极显著正相关,表明他们可用于指示植物的耐寒性。抵抗力指数的变化范围是-1~+1,值越大表明抵抗力越强,能够抵抗外界胁迫的能力越强,+1表示胁迫对植物完全没有影响(抵抗力最大)^[37]。在低温处理下,旋扭山绿豆的 F_v/F_m 、SOD 及 POD 的抵抗力指数与紫花大翼豆没有显著差异,说明 F_v/F_m 、SOD 和 POD 不能较好地地区分旋扭山绿豆和紫花大翼豆对低温胁迫的抵抗力。但旋扭山绿豆的 Yield、ETR、CAT、Pro 和可溶性糖的抵抗力指数显著高于紫花大翼豆,说明旋扭山绿豆主要是通过调节 Yield、ETR、CAT 活性和渗透调节物质含量来适应低温胁迫,这与回归分析的结果基本一致。然而生态稳定性是由抵抗力和恢复力 2 个部分组成的^[53],本文仅研究了旋扭山绿豆的抵抗力指数,未验证其恢复力指数,这是本文的不足之处,尚需进一步研究。

不同种的生物学特性(生长、某些抗氧化酶及渗透调节物质等)差异很重要,正是因为这些差异决定了它们应对低温胁迫的能力。同时本研究是在低温控制条件下的短期试验,生长条件与野外环境存在一定的差距,因此需要进一步的野外试验验证才能保证在实际应用中的科学性。

3.5 两种牧草的营养成分比较

牧草营养成分的种类和数量直接关系到牲畜的产量与质量,是评价牧草品质优劣的重要依据,尤其是有效营养成分(粗蛋白、粗脂肪、粗纤维、粗灰分和无氮浸出物)^[54]。牧草中的粗蛋白是草食牲畜体蛋白的主要来源,而粗脂肪和无氮浸出物是家畜能量的主要来源,同样牧草中适量的粗纤维含量有利于家畜对食物的消化^[54],另一方面粗灰分含量及其元素组成也很重要^[55]。一般认为,粗蛋白、粗脂肪、无氮浸出物和灰分的含量越高,则营养价值越高;而粗纤维含量越低的牧草,其饲用价值越高^[55]。旋扭山绿豆的粗蛋白、粗脂肪、无氮浸出物和灰分的含量都较紫花大翼豆高,且粗纤维只有紫花大翼豆的 55%,有研究表明旋扭山绿豆的必需氨基酸齐全,胡萝卜素和抗坏血酸含量较高和动物所需要的主要微量元素,尤其是铁、锰、锌含量较高^[18],因此综合来说,旋扭山绿豆的营养价值高于紫花大翼豆。

综上所述,引进品种旋扭山绿豆是一种抗寒性与营养价值均优于紫花大翼豆的优良牧草品种。因

而在南方各省推广旋扭山绿豆具有良好的应用前景。同时,叶绿素荧光参数(Yield 和 ETR)、CAT 与渗透调节物质(Pro 和可溶性糖)可以快速、准确地反映植物冷害,建议将其作为旋扭山绿豆耐寒性鉴定的重要生理指标。

参考文献

- [1] CHEN Z H, LI X Y, HONG J. Current situation, problems, and suggestions for forage germplasm resource conservation in China [J]. *Pratacult Sci*, 2018, 35(1): 186–191. doi: 10.11829/j.issn.1001-0629.2017-0155.
陈志宏, 李新一, 洪军. 我国草种质资源的保护现状、存在问题及建议 [J]. *草业科学*, 2018, 35(1): 186–191. doi: 10.11829/j.issn.1001-0629.2017-0155.
- [2] XIN L J, WANG L X, LIU A M. Regional production and consumption equilibrium of feed grain in china and its policy implication [J]. *J Nat Resour*, 2018, 33(6): 965–977. doi: 10.31497/zrzyxb.20180300.
辛良杰, 王立新, 刘爱民. 我国饲料粮区域产销平衡特征及政策启示 [J]. *自然资源学报*, 2018, 33(6): 965–977. doi: 10.31497/zrzyxb.20180300.
- [3] MO X M, CHENG S Q, ZHENG Z H, et al. The effect of *Desmodium intortum* on the development of eco-agriculture in Jianjiang [J]. *Ecol Econ*, 1994(3): 47–49.
莫熙穆, 程双奇, 郑中华, 等. 旋扭山绿豆在鉴江流域生态农业发展中的作用及其栽培技术 [J]. *生态经济*, 1994(3): 47–49.
- [4] HAN D F, LI X P, LI J, et al. Mechanism of improving cold resistance of plant by glycine betaine and its application [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2010, 18(2): 210–216. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2010.02.016.
韩冬芳, 李雪萍, 李军, 等. 甜菜碱提高植物抗寒性的机理及其应用 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2010, 18(2): 210–216. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2010.02.016.
- [5] YANG J C, DU G F, PENG J Z. Comparison of cold resistance and nutritional quality of six tropical and subtropical leguminous forages during overwintering period [J]. *Pratacult Sci*, 2017, 34(4): 794–801. doi: 10.11829/j.issn.1001-0629.2016-0560.
杨继春, 杜贵锋, 彭建宗. 6种热带亚热带豆科牧草抗寒性及营养品质比较 [J]. *草业科学*, 2017, 34(4): 794–801. doi: 10.11829/j.issn.1001-0629.2016-0560.
- [6] WANG C Z, QIAN S, TAN F Y, et al. Influence of winter climate on agricultural production in 2015/2016 [J]. *Chin J Agrometeorol*, 2016, 37(2): 255–257. doi: 10.3969/j.issn.1000-6362.2016.02.016.
王纯枝, 钱拴, 谭方颖, 等. 2015/2016年冬季气候对农业生产的影响 [J]. *中国农业气象*, 2016, 37(2): 255–257. doi: 10.3969/j.issn.1000-6362.2016.02.016.

- [7] WANG C L, LIU J L, ZENG X, et al. Characteristics of recent 50 year's cold damage in winter in Guangdong [J]. *J Nat Disast*, 2004, 13(4): 121–127. doi: 10.3969/j.issn.1004-4574.2004.04.021.
王春林, 刘锦鑫, 曾侠, 等. 近50年来广东冬季寒害的特征 [J]. *自然灾害学报*, 2004, 13(4): 121–127. doi: 10.3969/j.issn.1004-4574.2004.04.021.
- [8] LIN Q M, CHEN Y Q, REN W B, et al. Analysis of a 2016 cold wave weather process in eastern Guangdong and an associated aquaculture disaster in the shallow offshore waters [J]. *Guangdong Meteor*, 2017, 39(2): 7–11. doi: 10.3969/j.issn.1007-6190.2017.02.002.
林巧美, 陈映强, 任文斌, 等. 2016年粤东一次寒潮天气过程及浅海养殖灾情分析 [J]. *广东气象*, 2017, 39(2): 7–11. doi: 10.3969/j.issn.1007-6190.2017.02.002.
- [9] WANG H, CHEN H H, TANG L S, et al. Temporal and spatial change of climate resources and meteorological disasters under climate change during winter crop growing season in Guangdong Province, China [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2018, 29(1): 93–102. doi: 10.13287/j.1001-9332.201801.015.
王华, 陈慧华, 唐力生, 等. 气候变暖背景下广东冬种生产季气候资源和气象灾害的时空变化 [J]. *应用生态学报*, 2018, 29(1): 93–102. doi: 10.13287/j.1001-9332.201801.015.
- [10] CHEN X, ZHOU Z H, WANG R Q, et al. Effect of low temperature stress on antioxidant ability in *Ilex verticillata* leaves [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2016, 24(6): 689–695. doi: 10.11926/j.issn.1005-3395.2016.06.013.
陈茜, 周之涵, 王瑞琪, 等. 低温处理对北美冬青叶片抗氧化能力的影响 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2016, 24(6): 689–695. doi: 10.11926/j.issn.1005-3395.2016.06.013.
- [11] BO X P, WANG M X, CUI L, et al. Evaluation on correlations of three kinds of osmoregulation substances in tea fresh leaves with low temperature during winter and spring respectively and their difference among cultivars [J]. *Sci Agric Sin*, 2016, 49(19): 3807–3817. doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2016.19.012.
薄晓培, 王梦馨, 崔林, 等. 茶树 3 类渗透调节物质与冬春低温相关性及其品种间的差异评价 [J]. *中国农业科学*, 2016, 49(19): 3807–3817. doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2016.19.012.
- [12] HABIBI F, NORMAHAMADI G H, HEIDARY S A H, et al. Effect of cold stress on cell membrane stability, chlorophyll *a* and *b* contain and proline accumulation in wheat (*Triticum aestivum* L.) variety [J]. *Afr J Agric Res*, 2011, 6(27): 5854–5859.
- [13] WANG X X, LI S D, DONG H R, et al. The correlation of cold-tolerance with ABA, soluble sugar and respiratory intensity in tomato [J]. *Acta Hort Sin*, 1998, 25(1): 56–60.
王孝宣, 李树德, 东惠茹, 等. 番茄品种耐寒性与 ABA 和可溶性糖含量的关系 [J]. *园艺学报*, 1998, 25(1): 56–60.
- [14] BAKER N R. Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis *in vivo* [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2008, 59(1): 89–113. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759.
- [15] TANG M L, QUAN J C. Introduction and cultivation technology of fine breeds of green manure in orchards [J]. *SW Hort*, 2001, 29(3): 57–58.
唐明丽, 全金成. 果园绿肥良种旋扭山绿豆引种栽培技术 [J]. *西南园艺*, 2001, 29(3): 57–58.
- [16] YE X Z, LI Y X, ZHANG D M, et al. The relationship between the morphological and anatomical characters of vegetative organs of *Desmodium intortum* and the high nitrogen fixation, shade tolerance and conservation of soil and water [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 1994, 2(1): 31–37.
叶绣珍, 李煜祥, 张德明, 等. 旋扭山绿豆(*Desmodium intortum*)营养器官的形态解剖特点与高固氮、耐阴和水土保持的关系 [J]. *热带亚热带植物学报*, 1994, 2(1): 31–37.
- [17] PEREZ-MALDONADO R A, NORTON B W. The effects of condensed tannins from *Desmodium intortum* and *Calliandra calothyrsus* on protein and carbohydrate digestion in sheep and goats [J]. *Br J Nutr*, 1996, 76(4): 515–533. doi: 10.1079/BJN19960060.
- [18] CHENG H Q, ZHANG W W, CHEN Z P, et al. Effect of overshadow on nutritional components in *Desmodium intortum* [J]. *J S China Nor Univ (Nat Sci)*, 2000(3): 88–91. doi: 10.3969/j.issn.1000-5463.2000.03.021.
程惠青, 张文文, 陈兆平, 等. 遮荫对旋扭山绿豆的营养成分的影响 [J]. *华南师范大学学报(自然科学版)*, 2000(3): 88–91. doi: 10.3969/j.issn.1000-5463.2000.03.021.
- [19] LIN D Q. High antialkaline and symbiotic nitrogen fixation activity of the fast-growing rhizobia from *Desmodium intortum* [J]. *Acta Microbiol Sin*, 1989, 20(5): 354–359. doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.1989.05.004.
林德球. 旋扭山绿豆快生型根瘤菌高度抗碱及共生固氮 [J]. *微生物学报*, 1989, 20(5): 354–359. doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.1989.05.004.
- [20] YAO X W, CHEN Z P, CHENG S Q, et al. Expression of hydrogenase system in strain MXDI₆ of rhizobium (*Desmodium intortum*) [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 1995, 3(2): 65–69.
姚小文, 陈兆平, 程双奇, 等. 旋扭山绿豆根瘤菌 MXDI₆ 菌株氢酶诱导表达 [J]. *热带亚热带植物学报*, 1995, 3(2): 65–69.
- [21] JING Y X, CHEN Z P, CHENG H Q, et al. Root hair deformation testing of nodulation factor in rhizobium strain CB627 isolated from *Desmodium intortum* [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 1999, 7(1): 81–83.
靖元孝, 陈兆平, 程惠青, 等. 旋扭山绿豆根瘤菌 CB627 结瘤因子的测定 [J]. *热带亚热带植物学报*, 1999, 7(1): 81–83.
- [22] KHAN Z R, MIDEGA C A O, WANYAMA J M, et al. Integration of edible beans (*Phaseolus vulgaris* L.) into the push-pull technology developed for stemborer and *Striga* control in maize-based cropping systems [J]. *Crop Prot*, 2009, 28(11): 997–1006. doi: 10.1016/j.cropro.

- 2009.05.014.
- [23] TOBISA M, UCHIDA Y. Effect of phosphorus application and arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on the growth of American Jointvetch and Greenleaf Desmodium [J]. Amer J Agric Biol Sci, 2017, 12(2): 85–94. doi: 10.3844/ajabssp.2017.85.94.
- [24] MIDEGA C A O, WASONGA C J, HOOPER A M, et al. Drought-tolerant *Desmodium* species effectively suppress parasitic *Striga* weed and improve cereal grain yields in western Kenya [J]. Crop Prot, 2017, 98: 94–101. doi: 10.1016/j.cropro.2017.03.018.
- [25] MIDEGA C A O, PITTCHAR J O, PICKETT J A, et al. A climate-adapted push-pull system effectively controls fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J E Smith), in maize in East Africa [J]. Crop Prot, 2018, 105: 10–15. doi: 10.1016/j.cropro.2017.11.003.
- [26] ZHOU Y W, LIU Y P, DAI S L. Identification of cold resistant plants by chlorophyll fluorescence analysis technique [J]. Plant Physiol Commun, 2006, 42(5): 945–950.
- 周蕴薇, 刘艳萍, 戴思兰. 用叶绿素荧光分析技术鉴定植物抗寒性的剖析 [J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(5): 945–950.
- [27] YANG J M, MENG Q R, WANG X D, et al. Effects of low temperature stress and INA bacteria on chlorophyll fluorescence parameter and cold resistance in young fruits of Apricot [J]. Sci Agric Sin, 2002, 35(9): 1090–1094. doi: 10.3321/j.issn:0578-1752.2002.09.011.
- 杨建民, 孟庆瑞, 王雪冬, 等. INA 细菌对杏幼果叶绿素荧光参数及抗寒性的影响 [J]. 中国农业科学, 2002, 35(9): 1090–1094. doi: 10.3321/j.issn:0578-1752.2002.09.011.
- [28] WANG X T, LU Q W, CANG J, et al. Effects of cold acclimation on chlorophyll fluorescence characteristics and antioxidant enzyme activity in winter wheat [J]. Plant Physiol J, 2016, 52(12): 1959–1969. doi: 10.13592/j.cnki.ppj.2016.0352.
- 王秀田, 卢秋巍, 苍晶, 等. 低温驯化对冬小麦叶绿素荧光特性及抗氧化酶活性的影响 [J]. 植物生理学报, 2016, 52(12): 1959–1969. doi: 10.13592/j.cnki.ppj.2016.0352.
- [29] GAO C H, HU J, ZHENG Y Y, et al. Antioxidant enzyme activities and proline content in maize seedling and their relationships to cold endurance [J]. Chin J Appl Ecol, 2006, 17(6): 1045–1050.
- 高灿红, 胡晋, 郑昉晖, 等. 玉米幼苗抗氧化酶活性、脯氨酸含量变化及其耐寒性的关系 [J]. 应用生态学报, 2006, 17(6): 1045–1050.
- [30] TENG S H, LAI Z Q. High yield cultivation and utilization of leguminous forage *Macroptilium atropurpureum* [J]. Shanghai J Animal Husbandry Vet Med, 2013(5): 52–53. doi: 10.3969/j.issn.1000-7725.2013.05.027.
- 滕少花, 赖志强. 优良豆科牧草大翼豆高产栽培与利用 [J]. 上海畜牧兽医通讯, 2013(5): 52–53. doi: 10.3969/j.issn.1000-7725.2013.05.027.
- [31] GRAY G R, CHAUVIN L P, SARHAN F, et al. Cold acclimation and freezing tolerance (a complex interaction of light and temperature) [J]. Plant Physiol, 1997, 114(2): 467–474. doi: 10.1104/pp.114.2.467.
- [32] SCHREIBER U, SCHLIWA U, BILGER W. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer [J]. Photosyn Res, 1986, 10(1/2): 51–62. doi: 10.1007/BF00024185.
- [33] ZHU Z J, WEI G Q, LI J, et al. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. Plant Sci, 2004, 167(3): 527–533. doi: 10.1016/j.plantsci.2004.04.020.
- [34] AL-AGHABARY K, ZHU Z J, SHI Q H. Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress [J]. J Plant Nutr, 2005, 27(12): 2101–2115. doi: 10.1081/PLN-200034641.
- [35] ZHANG Z L, QU W J. The Experimental Guide for Plant Physiology [M]. 3rd ed. Beijing: Higher Education Press, 2003: 123–124.
- 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导 [M]. 第3版. 北京: 高等教育出版社, 2003: 123–124.
- [36] ZHAO S J, XU C C, ZOU Q, et al. Improvements of method for measurement of malondialdehyde in plant tissues [J]. Plant Physiol Commun, 1994, 30(3): 207–210.
- 赵世杰, 许长成, 邹琦, 等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进 [J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 207–210.
- [37] ORWIN K H, WARDLE D A. New indices for quantifying the resistance and resilience of soil biota to exogenous disturbances [J]. Soil Biol Biochem, 2004, 36(11): 1907–1912. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.04.036.
- [38] Yunnan Jinye Ecological Construction Group. A well-nourished leguminous forage: *Macroptilium atropurpureum* [J]. Farmer Sci Technol, 2010(5): 8.
- 云南今业生态建设集团. 营养全面的豆科牧草——大翼豆 [J]. 农家科技, 2010(5): 8.
- [39] PA M X, HUANG Z W. Chemical composition and nutrition evaluation of 38 forage grass in Guangxi Province, China [J]. Guangxi J Animal Husbandry Vet Med, 2014, 30(6): 287–289. doi: 10.3969/j.issn.1002-5235.2014.06.002.
- 帕明秀, 黄志伟. 广西 38 种牧草的化学成分分析及营养价值评定 [J]. 广西畜牧兽医, 2014, 30(6): 287–289. doi: 10.3969/j.issn.1002-5235.2014.06.002.
- [40] GENTY B, BRIANTAIS J M, BAKER N R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence [J]. Biochim Biophys Acta, 1989, 990(1):

- 87–92. doi: 10.1016/S0304-4165(89)80016-9.
- [41] ROHÁČEK K. Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships [J]. *Photosynthetica*, 2002, 40(1): 13–29. doi: 10.1023/A:1020125719386.
- [42] WU X X, YANG X C, ZHU Z W, et al. Effects of exogenous 6-BA on photosynthesis, chlorophyll fluorescence characteristics and the allocation of absorbed light in eggplant seedlings under low temperature stress [J]. *Plant Physiol J*, 2013, 49(11): 1181–1188. doi: 10.13592/j.cnki.ppj.2013.11.003.
吴雪霞, 杨晓春, 朱宗文, 等. 外源 6-BA 对低温胁迫下茄子幼苗光合作用、叶绿素荧光参数及光能分配的影响 [J]. *植物生理学报*, 2013, 49(11): 1181–1188. doi: 10.13592/j.cnki.ppj.2013.11.003.
- [43] LIAO D B, BAI K D, CAO K F, et al. Seasonal changes in photosynthetic traits of the co-occurring evergreen and deciduous broad-leaved species in a montane forest of Mao'er Mountain, Guangxi [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2008, 16(3): 205–211. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2008.03.004.
廖德宝, 白坤栋, 曹坤芳, 等. 广西猫儿山中山森林共生的常绿和落叶阔叶树光合特性的季节变化 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2008, 16(3): 205–211. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2008.03.004.
- [44] SUN B Y, SUN L L, SONG L Y, et al. Contrasting changes of chlorophyll fluorescence in leaves of invasive *Wedelia trilobata* at different temperatures under high irradiance stress [J]. *J S China Norm Univ (Nat Sci)*, 2009(4): 100–105.
孙蓓育, 孙兰兰, 宋莉英, 等. 入侵植物三裂叶蟛蜞菊叶片叶绿素荧光对温度的响应 [J]. *华南师范大学学报(自然科学版)*, 2009(4): 100–105.
- [45] FU J J, LIU J, SUN Y F, et al. Effects of cold stress on the growths and physiological characteristics of two *Elymus nutans* varieties [J]. *Acta Agrest Sin*, 2014, 22(4): 789–795. doi: 10.11733/j.issn.1007-0435.2014.04.017.
付娟娟, 刘建, 孙永芳, 等. 冷胁迫对 2 种垂穗披碱草生长和生理特性的影响 [J]. *草地学报*, 2014, 22(4): 789–795. doi: 10.11733/j.issn.1007-0435.2014.04.017.
- [46] LI C Y, XU W, LIU L W, et al. Changes of endogenous hormone contents and antioxidative enzyme activities in wheat leaves under low temperature stress at jointing stage [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2015, 26(7): 2015–2022. doi: 10.13287/j.1001-9332.20150527.004.
李春燕, 徐雯, 刘立伟, 等. 低温条件下拔节期小麦叶片内源激素含量和抗氧化酶活性的变化 [J]. *应用生态学报*, 2015, 26(7): 2015–2022. doi: 10.13287/j.1001-9332.20150527.004.
- [47] TIAN J H, WANG H X, ZHANG Z H, et al. Effects of chilling stress on antioxidant system and ultrastructure of walnut cultivars [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2015, 26(5): 1320–1326. doi: 10.13287/j.1001-9332.20150319.004.
田景花, 王红霞, 张志华, 等. 低温逆境对不同核桃品种抗氧化系
- 统及超微结构的影响 [J]. *应用生态学报*, 2015, 26(5): 1320–1326. doi: 10.13287/j.1001-9332.20150319.004.
- [48] YE Y R, WANG W L, ZHENG C S, et al. Evaluation of cold resistance of four wild *Carex* species [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2017, 28(1): 89–95. doi: 10.13287/j.1001-9332.201701.035.
叶艳然, 王文莉, 郑成淑, 等. 四种野生苔草属植物的耐寒性评价 [J]. *应用生态学报*, 2017, 28(1): 89–95. doi: 10.13287/j.1001-9332.201701.035.
- [49] ASHRAF M, FOOLAD M R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance [J]. *Environ Exp Bot*, 2007, 59(2): 206–216.
- [50] DENG R J, FAN J X, WANG Y Q, et al. Physiological responses of pitaya (*Hylocereus* spp.) seedlings to chilling stress and comprehensive evaluation of their cold resistance [J]. *Plant Physiol J*, 2014, 50(10): 1529–1534. doi: 10.13592/j.cnki.ppj.2014.0174.
邓仁菊, 范建新, 王永清, 等. 火龙果幼苗对低温胁迫的生理响应及其抗寒性综合评价 [J]. *植物生理学报*, 2014, 50(10): 1529–1534. doi: 10.13592/j.cnki.ppj.2014.0174.
- [51] LIANG J Y, JIAO T, WU J P, et al. The relationship between seasonal forage digestibility and forage nutritive value in different grazing pastures [J]. *Acta Pratacult Sin*, 2015, 24(6): 108–115. doi: 10.11686/cyxb2014140.
梁建勇, 焦婷, 吴建平, 等. 不同类型草地牧草消化率季节动态与营养品质的关系研究 [J]. *草业学报*, 2015, 24(6): 108–115. doi: 10.11686/cyxb2014140.
- [52] ZHANG S X, NIMA P C, XU Y M, et al. Physiological responses to low temperature stress and cold tolerance evaluation in three *Elymus* species [J]. *Pratacult Sci*, 2016, 33(6): 1154–1163. doi: 10.11829/j.issn.1001-0629.2015-0489.
张高雄, 尼玛平措, 徐雅梅, 等. 3 个披碱草属牧草对低温胁迫的生理响应及苗期抗寒性评价 [J]. *草业科学*, 2016, 33(6): 1154–1163. doi: 10.11829/j.issn.1001-0629.2015-0489.
- [53] BOUCOT A J. The complexity and stability of ecosystems [J]. *Nature*, 1985, 315(6021): 635–636. doi: 10.1038/315635c0.
- [54] XIN Y C. The analysis of nutrition ingredient of grass in Qinghai natural grassland [J]. *Qinghai Pratacult*, 2011, 20(1): 26–31.9. doi: 10.3969/j.issn.1008-1445.2011.01.008.
辛玉春. 青海天然草地牧草营养成分分析 [J]. *青海草业*, 2011, 20(1): 26–31.9. doi: 10.3969/j.issn.1008-1445.2011.01.008.
- [55] CHEN P, LIANG F Y, LI R T, et al. Nutritional composition analysis of several forages in Guangxi Province, China [J]. *Guangxi Agric Sci*, 1983(1): 46–49.
陈平, 梁发英, 李瑞棠, 等. 广西几种牧草营养成分分析 [J]. *广西农业科学*, 1983(1): 46–49.