

$^{60}\text{Co-}\gamma$ 诱变白三叶海发抗旱突变体幼苗的筛选与鉴定

马菲 袁庆华* 辛宝宝 王瑜

(中国农业科学院 北京畜牧兽医研究所,北京 100193)

摘要 为筛选抗旱的白三叶新品种,以盆栽的方式,对生长了 64 d 的 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 诱变白三叶(*Trifolium repens* L.) 海发品种扩繁苗进行持续干旱处理 21 d,通过测定地上(地下)鲜重、地上(地下)干重、叶绿素、相对含水量、叶片保水力、丙二醛含量、相对电导率、可溶性糖和脯氨酸含量,比较诱变材料与未诱变材料耐旱性的差异,采用标准差赋予权重法对材料的耐旱性进行综合评价。经过筛选,120 份诱变材料中共得到 97 个突变体。材料间除了叶绿素和叶片保水力 2 个指标差异不显著外,其他指标均差异显著($P < 0.05$)。通过综合评价可知,共有 41 份诱变材料的综合评价价值大于未诱变材料Ⅲ,说明这 41 份材料的耐旱性强于材料Ⅲ,同时筛选出 4 份极端耐旱材料,分别为Ⅲ40-1、Ⅲ70-2、Ⅲ70-3 和Ⅲ70-5。

关键词 白三叶; $^{60}\text{Co-}\gamma$ 诱变;抗旱突变体;筛选

中图分类号 S541+.2

文章编号 1007-4333(2017)01-0029-12

文献标志码 A

Selection and identification of drought resistance mutants of mutagenic white clover Haifa varieties by $^{60}\text{Co-}\gamma$

MA Fei, YUAN Qinghua*, XIN Baobao, WANG Yu

(Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100193, China)

Abstract Screening for new varieties of white clover, the cutting seedlings of mutagenic white clover Haifa varieties by $^{60}\text{Co-}\gamma$, which had grown 64 d in pots, were treated with water stress for 21 days. The mutants were then evaluated by measuring the ground/underground fresh- and dry weight, chlorophyll, relative water content, water retention of leaves, MDA, electrical conductivity, soluble sugar and Pro. And the differences between the mutation and the original materials were compared. Besides, the materials' drought tolerance ability was evaluated by using the standard deviation coefficient of weight method. The results showed that 97 mutants were selected from 120 materials. Parameters excluding chlorophyll content and water retention of leaves, displayed significant differences ($P < 0.05$). Through comprehensive evaluation, the comprehensive values of 41 mutagenic materials were greater than those of original material Ⅲ. It meant the drought tolerance of 41 materials was stronger than original material, and 4 extremely drought tolerance materials were identified (Ⅲ40-1, Ⅲ70-2, Ⅲ70-3 and Ⅲ70-5).

Keywords white clover; $^{60}\text{Co-}\gamma$ mutagenesis; drought resistance mutants; screen

白三叶(*Trifolium repens* L.)是豆科三叶草属多年生草本植物,在我国作为优质牧草和绿化植物广泛种植和应用,其具有营养价值高、适口性好和花期长等特点^[1]。但是白三叶属于浅根型植物,生态幅较窄,常常受到干旱胁迫影响。因此,选育白三叶抗旱材料,对于拓宽白三叶生态适应幅度、扩大白

三叶种植范围具有重要意义。

随着诱变技术和组培技术的逐渐成熟,国内外对牧草诱变育种已做了许多工作^[2-5],而且我国诱变育种已在水稻、小麦、谷子、大麦等作物上做了大量研究,在 37 种植物上共育成 400 多个突变品种^[6-7],但在白三叶中诱变育种报道较少。本研究在前人研

收稿日期:2016-02-29

基金项目:国家十二五支撑项目(2013BAD01B03);财政专项物种资源保护费(2130135)

第一作者:马菲,硕士研究生,E-mail:MAF20080808@163.com

通讯作者:袁庆华,研究员,主要从事牧草遗传资源、草地保护及育种研究,E-mail:yuanqinghua@hotmail.com

究的基础上,以白三叶海发品种扦插苗为材料,在盆栽中进行抗旱突变体的筛选,并通过对其形态及生理生化性状的测定来鉴定突变体,比较未诱变材料与诱变材料间耐旱性的差异,旨在为白三叶抗旱基因功能分析及克隆等分子鉴定和突变体后代鉴定奠定重要基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为⁶⁰Co-γ 诱变白三叶海发品种扦插苗,辐照剂量为0、3、6、9、15、20、40和70 Gy(剂量率为1 Gy/min),依次编号为Ⅲ、Ⅲ3、Ⅲ6、Ⅲ9、Ⅲ15、Ⅲ20、Ⅲ40、Ⅲ70,其中3、6、9、15和20 Gy每个辐照剂量下20个单株;40和70 Gy每个辐照剂量下10个单株,材料由中国农业科学院北京畜牧兽医研究所提供。

1.2 幼苗的获取

将白三叶海发品种通过⁶⁰Co-γ 体细胞胚状体诱变形成的再生植株进行移栽^[8],待移栽成功的组培苗生长2个半月后,进行扦插扩繁。首先将组培苗从土壤中取出,然后剪取有2~3个芽的根茎,扦插到装有1.5 kg珍珠岩+蛭石的花盆(高15.07 cm,底径11.62 cm,口径17.18 cm)中,每盆扦插2株。将扦插好的幼苗放在25℃温室中进行正常的管理。

1.3 试验处理

扩繁苗生长64 d后,进行干旱胁迫试验。试验设置2个处理:一是对照组,正常浇水管理,每隔4 d根据土壤的湿润度,及时补水,保持土壤含水量达到田间持水量的70%;另一个是处理组,进行连续干旱处理21 d。每处理设3个重复。21 d后测定各项指标。

1.4 测试指标及方法

1.4.1 生物量的测定

用剪刀将供试材料地上部分剪下,直接放到天平上称取地上鲜重,然后将地下部分用流水冲洗干净后称取地下鲜重,最后将地上及地下材料放入105℃的烘箱12 h,冷却后称取地上及地下干重(精确到0.000 1 g)

1.4.2 叶片相对含水量和叶片保水力的测定

叶片含水量及保水力均参照Wilkinson的方法^[9]进行测定,并用公式(1)计算相对含水量和公式(2)计算叶片保水力。

$$\text{相对含水量} = \frac{W_1 - W_0}{W_2 - W_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中: W_1 为叶片鲜重; W_2 为叶片在蒸馏水中放置后的重量; W_0 为叶片干重。

$$\text{叶片保水力} = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中: W_1 为叶片鲜重; W_2 为叶片失水后的重量; W_0 为叶片干重。

1.4.3 电导率的测定

叶片电导率参照王守超等^[10]的方法进行测定。

1.4.4 可溶性糖含量测定

采用蒽酮比色法^[11]测定。

1.4.5 叶绿素含量测定

参照李合生的丙酮提取法测定^[12]。

1.4.6 丙二醛含量测定

采用硫代巴比妥酸法测定^[12]。

1.4.7 脯氨酸含量测定

采用酸性茚三酮法^[13]测定。

1.4 数据处理

利用Spss 19.0软件进行方差分析。

1.4.1 耐旱系数的计算

$$\text{耐旱系数 } X_{ij} = \frac{\text{各指标的处理值}}{\text{各指标的对照值}} \quad (1)$$

$$i = 1, 2, \dots, n; j = 1, 2, \dots, n$$

1.4.2 隶属函数值的计算

用耐旱系数按照下面的公式计算隶属函数值。

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

$$i = 1, 2, \dots, n; j = 1, 2, \dots, n$$

$$U(X_{ij}) = \frac{X_{\max} - X_{ij}}{X_{\max} - X_{\min}} \quad (3)$$

$$i = 1, 2, \dots, n; j = 1, 2, \dots, n$$

式中: X_{ij} 为第*i*个材料在第*j*个指标下的耐旱系数, X_{\max} 和 X_{\min} 分别为所有参试材料第*j*个指标下的最大值和最小值。指标与植物抗旱性成正相关,用式(2)计算隶属函数值;指标与植物抗旱性成负相关,用式(3)计算隶属函数值。

1.4.3 权重的计算

按照标准差系数赋予权重法进行计算,先用式(4)计算标准差系数 V_j ,然后用式(5)计算各指标的权重系数 W_j 。

$$V_j = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X_{ij} - \bar{X}_j)^2}}{\bar{X}_j} \quad (4)$$

式中： \bar{X}_j 为第 j 个指标耐旱系数平均值。

$$W_j = \frac{V_j}{\sum_{j=1}^m V_j} \quad (5)$$

1.4.4 综合评价值

用式(6)计算参试材料的综合评价值

$$D = \sum_{i=1}^n [U(X_{ij}) \times W_j] \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (6)$$

式中： D 为各材料的综合评价值。

2 结果与分析

2.1 突变体耐旱系数及方差分析

经过 21 d 持续干旱处理后,120 份诱变材料存

活 97 份诱变材料。通过对 97 份诱变材料和未诱变材料在 11 个指标下的抗旱系数进行方差分析(表 1),得出叶绿素和叶片保水力两个指标下各材料间差异不显著($P > 0.05$),其他 9 个指标下各材料间差异显著($P < 0.05$)。

97 份诱变材料的地上鲜重、地下鲜重、地上干重及地下干重与对照相比分别有 37、11、33 和 14 份诱变材料大于对照。其中地上鲜重、地下鲜重、地上干重及地下干重增幅最大的诱变材料有 4 份,分别为 III 40-1、III 70-2、III 70-3 和 III 70-5,各指标增幅范围分别达到 107.42%~303.16%、85.71%~92.86%、291.07%~360.71%和 93.33%~131.67%。

表 1 突变体的耐旱系数和方差分析

Table 1 Drought-resistant coefficient and variance analysis of mutants

材料编号 Accession no.	地上鲜重 Above-ground fresh weight	地下鲜重 Under-ground fresh weight	地上干重 Above-ground dry weight	地下干重 Under-ground dry weight	叶绿素 Chlorophyll	相对含水量 Relative water content	叶片保水力 Leaf water conservation	丙二醛 MDA	可溶性糖 Soluble sugar	脯氨酸 Proline	电导率 Electric conductivity
III	0.59	0.56	0.56	0.60	0.47	0.83	0.93	1.23	1.84	1.76	1.85
III 3-1	0.17	0.12	0.12	0.21	0.77	0.65	0.92	1.12	2.05	3.84	1.97
III 3-2	0.14	0.09	0.06	0.02	0.64	0.86	0.92	1.30	1.40	17.97	1.88
III 3-3	0.27	0.13	0.15	0.09	0.57	0.44	0.92	1.29	2.13	7.16	1.83
III 3-4	0.27	0.09	0.14	0.45	0.78	0.87	0.92	1.13	1.18	4.72	1.94
III 3-5	0.32	0.16	0.21	0.67	0.53	0.74	0.92	1.31	2.17	19.98	2.14
III 3-6	0.22	0.31	0.12	0.19	0.44	0.75	0.96	1.87	1.91	18.48	1.79
III 3-7	0.38	0.04	0.22	0.17	0.39	0.68	0.62	1.67	2.02	15.68	1.92
III 3-8	1.14	0.25	1.41	0.90	0.73	0.69	0.98	1.17	1.04	15.26	1.84
III 3-9	0.97	0.08	0.85	0.67	0.68	0.78	0.96	1.12	1.18	3.21	2.20
III 3-10	1.08	0.32	1.11	0.45	0.49	0.96	0.94	1.11	1.81	2.69	2.32
III 3-11	1.08	0.25	0.98	0.72	0.55	0.60	0.98	1.18	1.87	4.88	2.08
III 3-12	0.43	0.66	0.37	0.14	0.54	0.61	0.95	1.11	1.25	6.20	2.03
III 3-13	0.57	0.50	0.39	0.67	0.63	0.61	0.94	1.12	1.08	2.03	2.41
III 3-14	0.62	0.51	0.56	0.59	0.62	0.82	0.98	1.11	1.06	1.46	2.41
III 3-15	0.93	0.11	0.90	0.25	0.62	0.80	0.92	1.22	1.35	7.62	1.81
III 3-16	1.14	0.25	1.48	0.53	0.59	0.85	0.98	1.17	1.08	2.67	1.91
III 3-17	0.65	0.03	0.63	0.13	0.35	0.50	0.92	1.67	1.38	5.22	1.82
III 3-18	1.06	0.51	0.96	0.84	0.30	0.56	0.98	1.06	1.07	3.01	1.84
III 3-19	1.05	0.28	1.08	0.28	0.31	0.57	0.92	1.11	1.06	9.19	1.63
III 6-1	0.44	0.23	0.29	0.25	0.76	0.94	0.92	1.29	1.06	5.39	1.81
III 6-3	0.79	0.16	0.64	0.11	0.59	0.55	0.94	1.19	1.09	2.63	2.04
III 6-4	1.09	1.10	0.95	0.42	0.61	0.87	0.96	1.11	1.05	2.98	2.10

表1(续)

材料 编号	地上 鲜重	地下 鲜重	地上 干重	地下 干重	叶绿素	相对 含水量	叶片 保水力	丙二醛	可溶 性糖	脯氨酸	电导率
Accession no.	Above- ground fresh weight	Under- ground fresh weight	Above- ground dry weight	Under- ground dry weight	Chlorop hyll	Relative water content	Leaf water conser- vation	MDA	Soluble sugar	Proline	Electric conduc- tivity
Ⅲ 6-5	0.63	0.05	0.52	0.13	0.54	0.93	0.92	1.64	1.09	9.81	1.54
Ⅲ 6-6	0.30	0.23	0.21	0.24	0.50	0.94	0.92	1.78	1.05	19.98	1.47
Ⅲ 6-7	0.22	0.27	0.07	0.20	0.90	0.37	0.92	1.34	1.69	5.88	1.68
Ⅲ 6-9	1.07	0.89	0.83	0.25	0.56	0.28	0.47	1.21	1.12	4.48	1.67
Ⅲ 6-10	0.57	0.50	0.43	0.23	0.69	0.52	0.97	1.14	1.05	7.73	1.56
Ⅲ 6-11	0.14	0.25	0.09	0.28	0.59	0.91	0.92	1.85	1.33	11.69	1.54
Ⅲ 6-12	0.27	0.18	0.14	0.22	0.79	0.58	0.92	1.77	1.23	9.41	1.56
Ⅲ 6-15	0.30	0.05	0.06	0.24	0.54	0.37	0.62	1.75	1.05	3.57	2.12
Ⅲ 6-17	0.24	0.16	0.03	0.25	0.70	0.82	0.92	1.43	1.09	4.83	2.09
Ⅲ 6-19	0.13	0.31	0.23	0.29	0.81	0.92	0.92	1.74	1.17	6.47	1.47
Ⅲ 9-1	0.14	0.37	0.12	0.28	0.74	0.83	0.92	1.25	1.45	7.09	2.64
Ⅲ 9-2	0.12	0.36	0.18	0.30	0.64	0.84	0.92	1.25	2.09	4.42	2.08
Ⅲ 9-3	0.35	0.24	0.08	0.23	0.84	0.43	0.94	1.45	1.25	1.46	2.62
Ⅲ 9-4	0.63	0.15	0.58	0.16	0.63	0.54	0.92	1.35	1.08	11.92	1.80
Ⅲ 9-5	0.46	0.29	0.36	0.28	0.67	0.40	0.97	1.31	1.09	10.03	1.82
Ⅲ 9-6	0.14	0.31	0.07	0.26	0.79	0.82	0.92	1.24	1.34	5.95	1.87
Ⅲ 9-7	0.48	0.26	0.37	0.23	0.67	0.85	0.92	1.51	1.93	21.46	1.86
Ⅲ 9-8	0.28	0.16	0.14	0.15	0.64	0.41	0.63	1.63	1.52	18.75	1.92
Ⅲ 9-9	0.24	0.31	0.17	0.23	0.82	0.95	0.92	1.18	1.12	3.75	1.94
Ⅲ 9-10	0.13	0.16	0.03	0.14	0.79	0.49	0.92	1.49	2.22	23.67	1.90
Ⅲ 9-11	0.43	0.12	0.33	0.10	0.75	0.50	0.97	1.61	1.82	19.69	1.90
Ⅲ 9-12	0.77	0.11	0.71	0.11	0.89	0.43	0.92	1.24	1.56	20.63	1.88
Ⅲ 9-13	0.40	0.21	0.35	0.19	0.64	0.57	0.92	1.47	1.09	9.74	1.52
Ⅲ 9-14	0.22	0.33	0.10	0.24	0.75	0.59	0.92	1.50	2.33	6.54	1.62
Ⅲ 9-15	0.28	0.26	0.19	0.23	0.63	0.87	0.92	1.21	1.23	13.54	1.72
Ⅲ 9-16	0.40	0.14	0.37	0.09	0.68	0.66	0.92	1.28	1.35	15.70	1.74
Ⅲ 9-17	0.55	0.09	0.48	0.07	0.82	0.38	0.93	1.36	1.18	12.30	1.72
Ⅲ 9-18	0.74	0.14	0.73	0.07	0.71	0.72	0.96	1.80	1.08	2.42	2.09
Ⅲ 9-19	0.96	0.03	0.87	0.01	0.79	0.32	0.63	1.17	1.06	4.06	1.92
Ⅲ 9-20	0.72	0.15	0.68	0.11	0.85	0.43	0.63	1.24	1.07	14.61	1.76
Ⅲ 15-1	0.24	0.28	0.24	0.23	0.32	0.64	0.92	2.20	2.06	20.92	1.68
Ⅲ 15-2	0.14	0.24	0.13	0.16	0.54	0.77	0.94	1.87	1.72	12.64	1.72
Ⅲ 15-3	0.26	0.25	0.16	0.21	0.42	0.60	0.92	1.80	2.07	20.63	1.70
Ⅲ 15-4	0.19	0.22	0.10	0.18	0.39	0.71	0.92	1.87	2.15	21.11	1.68
Ⅲ 15-5	0.21	0.24	0.05	0.19	0.52	0.52	0.92	1.71	1.81	19.42	1.69
Ⅲ 15-6	0.72	0.03	0.74	0.06	0.48	0.43	0.97	2.51	2.00	14.78	1.74
Ⅲ 15-7	0.50	0.24	0.03	0.18	0.55	0.63	0.92	1.96	1.59	21.04	1.82

表 1(续)

材料 编号 Accession no.	地上	地下	地上	地下	叶绿素 Chlorophyll	相对 含水量 Relative water content	叶片	丙二醛 MDA	可溶 性糖 Soluble sugar	脯氨酸 Proline	电导率 Electric conductivity
	鲜重 Above- ground fresh weight	鲜重 Under- ground fresh weight	干重 Above- ground dry weight	干重 Under- ground dry weight			保水力 Leaf water conser- vation				
Ⅲ 15-8	0.45	0.22	0.05	0.21	0.38	0.69	0.94	2.40	1.60	19.32	2.00
Ⅲ 15-9	0.23	0.27	0.09	0.19	0.75	0.83	0.92	2.06	1.09	13.52	2.22
Ⅲ 15-10	0.29	0.06	0.24	0.02	0.52	0.77	0.92	2.10	1.09	16.57	2.04
Ⅲ 15-11	0.23	0.13	0.01	0.05	0.51	0.83	0.92	2.73	1.54	8.23	1.58
Ⅲ 15-12	0.29	0.10	0.29	0.04	0.43	0.40	0.92	2.23	1.38	15.71	2.06
Ⅲ 15-13	0.18	0.11	0.11	0.09	0.77	0.70	0.92	3.19	2.08	7.40	1.67
Ⅲ 15-14	0.54	0.20	0.51	0.16	0.51	0.73	0.92	2.10	1.64	16.35	2.03
Ⅲ 15-15	0.52	0.17	0.54	0.03	0.66	0.86	0.92	2.40	1.33	14.40	2.01
Ⅲ 15-16	0.57	0.08	0.63	0.05	0.40	0.52	0.92	2.13	2.02	11.62	1.99
Ⅲ 15-17	0.44	0.07	0.36	0.09	0.67	0.91	0.93	2.61	1.18	2.68	1.54
Ⅲ 15-18	0.23	0.15	0.14	0.19	0.61	0.89	0.93	2.17	1.47	9.53	2.04
Ⅲ 20-1	1.14	0.29	0.75	0.18	0.71	0.86	0.96	1.17	2.83	1.28	1.91
Ⅲ 20-2	0.94	0.51	0.96	0.37	0.89	0.89	0.96	1.02	1.07	1.67	1.50
Ⅲ 20-3	0.96	1.02	1.35	0.98	0.90	0.91	0.99	1.24	1.04	1.14	1.62
Ⅲ 20-4	0.62	0.39	0.46	0.41	0.91	0.86	0.92	1.01	1.08	1.09	1.69
Ⅲ 20-5	0.64	0.11	0.61	0.02	0.89	0.86	0.92	1.32	1.05	1.52	1.64
Ⅲ 20-6	0.66	0.23	0.56	0.04	0.92	0.87	0.92	1.21	1.05	2.14	1.91
Ⅲ 20-7	0.56	0.20	0.52	0.03	0.90	0.71	0.92	1.11	1.04	1.60	2.04
Ⅲ 20-8	0.63	0.02	0.60	0.02	0.92	0.85	0.92	1.22	1.05	2.47	1.48
Ⅲ 20-9	0.74	0.03	0.73	0.10	0.89	0.85	0.92	1.13	1.05	1.66	2.13
Ⅲ 20-10	0.49	0.06	0.30	0.05	0.90	0.72	0.95	1.04	1.43	1.75	1.75
Ⅲ 20-11	0.77	0.09	0.66	0.05	0.95	0.85	0.92	1.14	1.04	1.33	2.11
Ⅲ 20-12	0.44	0.07	0.28	0.10	0.94	0.80	0.95	1.11	1.51	1.27	1.57
Ⅲ 20-13	0.23	0.21	0.08	0.23	0.96	0.58	0.92	1.34	1.60	3.02	1.47
Ⅲ 20-14	0.27	0.38	0.18	0.34	0.95	0.60	0.92	1.28	1.03	3.00	1.44
Ⅲ 20-16	0.37	0.12	0.30	0.20	0.93	0.67	0.92	1.88	1.08	2.41	1.85
Ⅲ 20-17	0.25	0.10	0.06	0.20	0.96	0.59	0.92	1.32	1.11	2.51	1.72
Ⅲ 20-18	0.19	0.30	0.03	0.23	0.83	0.92	0.92	1.51	1.08	1.50	1.45
Ⅲ 20-19	0.48	0.07	0.34	0.21	0.95	0.93	0.93	1.18	1.93	2.30	1.52
Ⅲ 20-20	0.19	0.25	0.09	0.28	0.97	0.89	0.92	1.54	1.92	3.12	1.48
Ⅲ 40-1	1.20	1.04	2.19	1.16	0.69	0.96	0.62	1.13	1.04	2.25	1.71
Ⅲ 40-2	0.67	0.93	1.05	0.94	0.57	0.92	0.96	1.11	1.04	2.74	1.68
Ⅲ 70-1	0.83	0.96	0.84	0.97	0.64	0.94	0.97	1.57	2.49	1.49	1.92
Ⅲ 70-2	1.19	1.08	2.19	1.39	0.75	0.97	0.63	1.57	1.04	1.41	1.40
Ⅲ 70-3	1.21	1.05	2.21	1.26	0.66	0.98	0.63	1.17	1.06	17.36	1.38
Ⅲ 70-4	1.21	1.03	1.27	1.03	0.66	0.94	0.60	1.14	3.02	2.28	1.42
Ⅲ 70-5	1.12	1.07	2.58	1.37	0.61	0.99	0.99	1.11	2.36	5.47	1.31
Ⅲ 70-6	1.23	0.34	0.59	0.44	0.71	0.87	0.63	1.70	1.04	1.79	1.44
<i>F</i> 值	17.14*	6.98*	17.83*	3.69*	0.36	24.84*	0.91	6.94*	45.41*	12.48*	39.06*

注: * 表示在 0.05 水平上差异显著。

Note: * shows significant difference at $P < 0.05$ level.

从对照水平来看,干旱胁迫后各材料的叶绿素含量均显著低于对照,但各材料间差异不显著($P > 0.05$)。诱变材料的降幅为53%,97份诱变材料中有86份材料叶绿素含量的降幅小于未诱变材料,其中诱变材料Ⅲ20-20、Ⅲ20-13和Ⅲ20-17的降幅较小,降幅分别为3%、4%和4%,表现出较强的抗旱性。

干旱胁迫21 d后,各材料的叶片保水力与对照相比均有所下降,降幅范围为1%~53%,各材料间差异不显著。总体来说,诱变材料Ⅲ20-3的降幅较小,为1%。各材料的相对含水量均小于对照,降幅范围1%~72%,各材料间差异显著($P < 0.05$)。与对照相比,未诱变材料的降幅为17%,97份诱变材料中有37份材料的相对含水量降幅小于未诱变材料,其中诱变材料Ⅲ70-5、Ⅲ70-3、Ⅲ70-2和Ⅲ40-1降幅较小,分别为1%、2%、3%和4%。

从表1可以看出,在干旱胁迫下三叶草海发各材料MDA含量比对照均有所增加,但增幅不尽相同。未诱变材料MDA含量的增幅为23%,97份诱变材料中有36份材料MDA含量的增幅小于未诱变材料,其中诱变材料Ⅲ20-4、Ⅲ20-2、Ⅲ20-10和Ⅲ3-18增幅较小,分别为1%、2%、4%和6%。

干旱胁迫对可溶性糖含量的影响因材料不同而呈现差异。与对照相比,所有材料可溶性糖的相对值都在增加,且增加幅度与材料的抗旱性成正相关。与诱变材料相比,97份诱变材料的可溶性糖大于未诱变材料的有22份,其中有4份材料的增幅较大,分别为Ⅲ70-4、Ⅲ20-1、Ⅲ70-1和Ⅲ70-5,比未诱变材料增加了64.13%、53.80%、35.33%和28.26%。

植物在逆境条件下都会引起体内脯氨酸积累,特别是干旱胁迫积累最多,可比原始含量增加几十倍到几百倍^[14]。本研究结果表明,在干旱胁迫后,97份诱变材料叶片脯氨酸含量均大于对照;各材料叶片脯氨酸积累量差异显著($P < 0.05$),有16份诱变材料低于未诱变材料,其中诱变材料Ⅲ20-4和Ⅲ20-3的脯氨酸含量显著低于未诱变材料,分别比未诱导材料下降38.07%和35.23%。结果表明,抗旱性较强的诱变材料脯氨酸积累较少,抗旱性较弱的诱变材料脯氨酸积累明显增多。

干旱胁迫后,与对照相比,各材料的相对电导率均呈上升趋势,但各材料间上升幅度不尽相同。与未诱变材料相比,54份诱变材料的叶片相对电导率低于未诱变材料,其中诱变材料Ⅲ70-5、Ⅲ70-3和

Ⅲ70-2叶片电导率最小,分别比未诱变材料叶片电导率低29.19%、25.41%和24.32%。

通过比较发现,诱变材料与未诱变材料相比在各指标下的耐旱系数相差较大,说明经过辐照诱变后,材料的耐旱性已经发生了变化,有可能筛选出耐旱性较好的材料。其次根据以上结果还可以看出,如果只从一个指标来判断诱变材料的抗旱性差距比较大,因此,本研究将形态指标和生理指标等11个指标进行综合评价,是一种客观、有效的抗旱性评价方法^[15]。

2.2 突变体的隶属函数值和综合排名

97份诱变材料地上地下生物量、相对含水量、叶片保水力、丙二醛、可溶性糖、脯氨酸和电导率的耐旱系数通过隶属函数法,标准差系数赋予权重法,对其抗旱性进行综合评价,得出各诱变材料的综合评价值(D 值),应用 D 值对97份诱变材料的抗旱性进行排名(见表2)。从表2可以看出,未诱变材料Ⅲ的 D 值为0.3145,诱变材料的 D 值在0.1771~0.6397。与未诱变材料Ⅲ相比,有41份诱变材料的 D 值大于未诱变材料Ⅲ,说明这41份材料的耐旱性强于未诱变材料。综上所述,诱变材料Ⅲ40-1、Ⅲ70-2、Ⅲ70-3和Ⅲ70-5的 D 值较大,属于极端耐旱材料; D 值介于0.3~0.5的41份诱变材料,属于耐旱性较好;其余 D 值低于0.3的诱变材料,属于耐旱性较差材料。

3 结论与讨论

通过辐射诱变可产生广泛的变异类型,如抗盐、抗病、抗旱等变异个体。但是辐射突变没有方向性,因此,需要对诱变材料进行定向的选择,否则要得到目标变异个体困难很大。本研究通过在不同辐射剂量下得到的诱变材料进行耐旱性筛选途径来选育抗旱突变体,从结果来看,效果明显,可以弥补辐射诱变无方向性的缺陷。

植物的抗旱性是复杂的数量性状、受多基因控制,不仅与植物类型、基因型、表型及生理生化代谢过程有关,而且与环境因子密切相关^[15]。指标的合理选择是抗旱性鉴定的关键。对任何单项指标和机理的研究都有一定的局限性,不能准确、有效地评价植物的抗旱性。但对于各类指标与植物的抗旱性的关系,不同的研究得出了不同结论。对大豆成株期的抗旱性鉴定评价表明形态指标与品种的抗旱性显著相关^[16];在小麦抗旱性相关农艺性状和生理生化

表 2 突变体的隶属函数值和综合排名
Table 2 Subordinative function values and comprehensive ranking of mutants

材料编号 Accession no.	隶属函数值 Subordinative function value										电导率 Electric conductivity	脯氨酸 Proline	D 值 D value	排名 Rank
	地上鲜重 Above- ground fresh weight	地下鲜重 Under- ground dry weight	地上干重 Above- ground fresh weight	地下干重 Under- ground dry weight	叶绿素 Chlorophyll	相对 含水量 Relative water content	叶片 保水力 Leaf water conservation	丙二醛 MDA	可溶性糖 Soluble sugar	叶片				
III	0.42	0.50	0.21	0.43	0.12	0.22	0.98	0.19	0.21	0.03	0.45	0.314	5	42
III 3-1	0.05	0.09	0.04	0.14	0.33	0.15	0.96	0.10	0.76	0.12	0.66	0.271	9	73
III 3-2	0.02	0.07	0.02	0.01	0.24	0.23	0.96	0.21	0.31	0.75	0.61	0.268	7	76
III 3-3	0.13	0.11	0.06	0.05	0.19	0.06	0.95	0.21	0.98	0.27	0.59	0.290	9	59
III 3-4	0.13	0.07	0.05	0.32	0.34	0.42	0.95	0.15	0.25	0.16	0.13	0.242	6	91
III 3-5	0.18	0.13	0.08	0.48	0.16	0.18	0.95	0.22	0.80	0.84	0.75	0.400	2	11
III 3-6	0.09	0.27	0.04	0.13	0.10	0.19	0.85	0.45	0.89	0.77	0.57	0.377	2	13
III 3-7	0.23	0.02	0.08	0.12	0.07	0.16	0.25	0.37	0.75	0.65	0.63	0.289	7	61
III 3-8	0.92	0.22	0.54	0.65	0.30	0.17	0.90	0.16	0.21	0.63	0.59	0.456	5	8
III 3-9	0.76	0.06	0.33	0.47	0.27	0.20	0.85	0.08	0.25	0.09	0.77	0.343	7	26
III 3-10	0.87	0.28	0.43	0.32	0.14	0.27	0.82	0.10	0.14	0.07	0.84	0.355	1	21
III 3-11	0.86	0.22	0.38	0.51	0.18	0.13	0.90	0.12	0.16	0.17	0.71	0.362	6	18
III 3-12	0.27	0.59	0.14	0.09	0.17	0.13	0.83	0.09	0.27	0.23	0.69	0.285	8	64
III 3-13	0.40	0.45	0.15	0.48	0.23	0.13	0.83	0.06	0.14	0.04	0.88	0.312	9	43
III 3-14	0.45	0.46	0.22	0.42	0.23	0.22	0.90	0.09	0.10	0.02	0.88	0.327	3	32
III 3-15	0.73	0.09	0.34	0.17	0.23	0.21	0.96	0.18	0.29	0.29	0.57	0.332	8	30
III 3-16	0.92	0.22	0.57	0.37	0.21	0.23	0.90	0.12	0.14	0.07	0.63	0.369	7	14
III 3-17	0.47	0.01	0.24	0.09	0.04	0.09	0.95	0.37	0.30	0.18	0.58	0.263	9	79
III 3-18	0.84	0.45	0.37	0.60	0.00	0.11	0.90	0.03	0.14	0.09	0.59	0.348	1	22
III 3-19	0.84	0.25	0.41	0.19	0.01	0.12	0.97	0.08	0.10	0.36	0.23	0.293	1	54
III 6-1	0.28	0.20	0.11	0.18	0.32	0.61	0.96	0.21	0.09	0.19	0.07	0.265	7	77
III 6-3	0.60	0.14	0.24	0.07	0.21	0.11	0.96	0.17	0.19	0.07	0.69	0.272	8	71
III 6-4	0.87	1.00	0.37	0.29	0.22	0.24	0.86	0.10	0.06	0.08	0.72	0.410	1	10
III 6-5	0.46	0.03	0.20	0.09	0.17	0.58	0.96	0.36	0.17	0.39	0.24	0.298	2	48

表 2(续)

材料编号 Accession no.	隶属函数值 Subordinative function value											电导率 Electric conductivity	脯氨酸 Proline	可溶性糖 Soluble sugar	丙二醛 MDA	叶片 保水力 Leaf water conservation	相对 含水量 Relative water content	叶绿素 Chlorophyll	地上干重 Above- ground fresh weight	地下干重 Under- ground dry weight	地上鲜重 Above- ground fresh weight	地下鲜重 Under- ground dry weight	D 值 D value	排名 Rank
	Above- ground fresh weight	Under- ground dry weight	Above- ground fresh weight	Under- ground dry weight	Chlorophyll	Relative water content	Leaf water conservation	MDA	Soluble sugar	Proline	Electric conductivity													
III 6-6	0.16	0.20	0.08	0.16	0.15	0.64	0.95	0.41	0.06	0.84	0.20	0.321 6	38											
III 6-7	0.09	0.23	0.02	0.14	0.51	0.04	0.97	0.23	0.39	0.21	0.30	0.250 5	86											
III 6-9	0.85	0.81	0.32	0.17	0.19	0.00	0.00	0.18	0.17	0.15	0.35	0.294 6	52											
III 6-10	0.40	0.45	0.16	0.15	0.28	0.10	0.87	0.15	0.21	0.29	0.30	0.276 9	68											
III 6-11	0.02	0.21	0.03	0.19	0.21	0.48	0.96	0.44	0.29	0.47	0.29	0.296 8	49											
III 6-12	0.13	0.15	0.05	0.15	0.35	0.12	0.96	0.41	0.26	0.37	0.30	0.261 6	82											
III 6-15	0.16	0.03	0.02	0.17	0.17	0.04	0.25	0.40	0.07	0.11	0.73	0.177 1	98											
III 6-17	0.10	0.14	0.01	0.17	0.28	0.36	0.95	0.27	0.18	0.17	0.72	0.263 5	81											
III 6-19	0.01	0.27	0.08	0.20	0.36	0.53	0.96	0.40	0.24	0.24	0.41	0.307 5	46											
III 9-1	0.02	0.32	0.04	0.20	0.31	0.38	0.96	0.19	0.32	0.27	1.00	0.322 5	37											
III 9-2	0.00	0.32	0.07	0.21	0.25	0.22	0.96	0.19	0.72	0.15	0.71	0.310 7	44											
III 9-3	0.20	0.20	0.03	0.16	0.60	0.06	0.81	0.28	0.27	0.02	0.99	0.286 7	63											
III 9-4	0.46	0.13	0.22	0.11	0.23	0.10	0.96	0.24	0.16	0.48	0.57	0.292 7	58											
III 9-5	0.31	0.25	0.13	0.19	0.26	0.05	0.87	0.22	0.18	0.40	0.58	0.278 0	67											
III 9-6	0.02	0.27	0.02	0.18	0.35	0.36	0.96	0.19	0.29	0.22	0.10	0.242 3	92											
III 9-7	0.32	0.22	0.14	0.16	0.26	0.38	0.96	0.30	0.45	0.90	0.60	0.391 1	12											
III 9-8	0.14	0.13	0.05	0.10	0.24	0.05	0.27	0.35	0.34	0.78	0.63	0.264 7	78											
III 9-9	0.11	0.27	0.06	0.16	0.37	0.27	0.96	0.17	0.23	0.12	0.13	0.229 6	97											
III 9-10	0.01	0.13	0.01	0.09	0.35	0.09	0.96	0.29	0.81	1.00	0.62	0.357 0	20											
III 9-11	0.27	0.09	0.12	0.06	0.32	0.09	0.87	0.34	0.42	0.82	0.62	0.329 6	31											
III 9-12	0.59	0.09	0.27	0.07	0.42	0.06	0.95	0.19	0.35	0.87	0.61	0.364 3	16											
III 9-13	0.25	0.18	0.13	0.13	0.24	0.12	0.96	0.29	0.22	0.38	0.38	0.263 2	80											
III 9-14	0.09	0.29	0.04	0.13	0.32	0.13	0.95	0.30	0.56	0.24	0.23	0.272 7	72											
III 9-15	0.14	0.23	0.07	0.16	0.24	0.24	0.96	0.18	0.26	0.55	0.02	0.248 5	87											
III 9-16	0.25	0.11	0.14	0.06	0.27	0.15	0.95	0.21	0.29	0.65	0.03	0.253 3	85											

表 2(续)

材料编号 Accession no.	隶属函数值 Subordinative function value														电导率 Electric conductivity	脯氨酸 Proline	可溶性糖 Soluble sugar	丙二醛 MDA	叶片 保水力 Leaf water conservation	相对 含水量 Relative water content	叶片 叶绿素 Chlorophyll	地下干重 Under- ground dry weight	地上干重 Above- ground fresh weight	地下鲜重 Under- ground dry weight	地上鲜重 Above- ground fresh weight	D 值 D value	排名 Rank
	Above- ground fresh weight	Under- ground dry weight	Above- ground fresh weight	Under- ground dry weight	Chlorophyll	Relative water content	Leaf water conservation	MDA	Soluble sugar	Proline	Electric conductivity	D value	Rank														
III 9-17	0.39	0.06	0.18	0.04	0.37	0.04	0.97	0.24	0.25	0.50	0.02	0.246 0	90														
III 9-18	0.55	0.12	0.28	0.04	0.29	0.18	0.85	0.42	0.20	0.06	0.72	0.300 0	47														
III 9-19	0.75	0.01	0.33	0.00	0.35	0.02	0.27	0.16	0.10	0.13	0.63	0.231 0	95														
III 9-20	0.54	0.12	0.26	0.07	0.39	0.06	0.27	0.19	0.13	0.60	0.04	0.236 6	93														
III 15-1	0.11	0.24	0.09	0.16	0.01	0.14	0.96	0.59	0.49	0.88	0.03	0.309 5	45														
III 15-2	0.02	0.21	0.05	0.11	0.18	0.20	0.81	0.45	0.40	0.51	0.02	0.247 3	88														
III 15-3	0.13	0.21	0.06	0.14	0.09	0.13	0.96	0.42	0.49	0.87	0.01	0.293 0	56														
III 15-4	0.06	0.19	0.03	0.12	0.07	0.17	0.96	0.45	0.52	0.89	0.05	0.288 3	62														
III 15-5	0.08	0.21	0.01	0.13	0.16	0.10	0.95	0.39	0.42	0.81	0.01	0.269 2	75														
III 15-6	0.54	0.01	0.28	0.03	0.13	0.06	0.87	0.72	0.47	0.61	0.03	0.317 1	41														
III 15-7	0.34	0.20	0.01	0.12	0.18	0.14	0.95	0.49	0.36	0.88	0.58	0.347 2	24														
III 15-8	0.30	0.19	0.01	0.14	0.06	0.17	0.82	0.67	0.36	0.81	0.67	0.345 6	25														
III 15-9	0.10	0.23	0.03	0.13	0.32	0.37	0.96	0.53	0.19	0.55	0.78	0.340 4	28														
III 15-10	0.15	0.03	0.09	0.04	0.16	0.20	0.95	0.55	0.19	0.69	0.69	0.292 9	57														
III 15-11	0.09	0.10	0.00	0.02	0.15	0.37	0.95	0.81	0.35	0.32	0.46	0.294 2	53														
III 15-12	0.15	0.08	0.11	0.02	0.09	0.05	0.96	0.60	0.30	0.65	0.70	0.295 0	51														
III 15-13	0.05	0.08	0.04	0.06	0.34	0.17	0.95	1.00	0.50	0.28	0.50	0.326 7	33														
III 15-14	0.38	0.17	0.19	0.11	0.15	0.18	0.95	0.55	0.37	0.68	0.69	0.364 0	17														
III 15-15	0.36	0.14	0.20	0.01	0.25	0.23	0.95	0.67	0.29	0.59	0.68	0.359 3	19														
III 15-16	0.40	0.05	0.24	0.03	0.07	0.10	0.95	0.56	0.48	0.47	0.67	0.326 5	34														
III 15-17	0.29	0.05	0.14	0.06	0.27	0.48	0.97	0.76	0.25	0.07	0.19	0.289 9	60														
III 15-18	0.10	0.12	0.05	0.13	0.22	0.43	0.98	0.58	0.33	0.37	0.69	0.325 7	35														
III 20-1	0.92	0.25	0.29	0.12	0.29	0.40	0.85	0.16	0.02	0.01	0.63	0.321 1	39														
III 20-2	0.74	0.45	0.37	0.26	0.56	0.43	0.86	0.13	0.11	0.03	0.37	0.367 8	15														
III 20-3	0.75	0.92	0.52	0.71	0.50	0.52	0.90	0.02	0.03	0.02	0.48	0.475 2	5														

表 2(续)

隶属函数值 Subordinative function value

材料编号 Accession no.	地上鲜重 Above- ground fresh weight	地下鲜重 Under- ground dry weight	地上干重 Above- ground fresh weight	地下干重 Under- ground dry weight	叶绿素 Chlorophyll	相对 含水量 Relative water content	叶片 保水力 Leaf water conservation	丙二醛 MDA	可溶性糖 Soluble sugar	脯氨酸 Proline	电导率 Electric conductivity	D 值 D value	排名 Rank
III 20-4	0.45	0.34	0.17	0.29	0.60	0.39	0.95	0.00	0.17	0.00	0.52	0.319 6	40
III 20-5	0.47	0.08	0.23	0.05	0.47	0.40	0.95	0.09	0.06	0.02	0.49	0.258 2	83
III 20-6	0.49	0.19	0.21	0.02	0.44	0.40	0.95	0.08	0.08	0.05	0.63	0.280 6	66
III 20-7	0.40	0.17	0.20	0.01	0.47	0.17	0.95	0.06	0.04	0.02	0.69	0.246 3	89
III 20-8	0.46	0.00	0.23	0.04	0.67	0.38	0.95	0.19	0.08	0.06	0.41	0.273 6	69
III 20-9	0.56	0.01	0.28	0.06	0.42	0.40	0.97	0.15	0.08	0.03	0.74	0.293 0	55
III 20-10	0.34	0.04	0.11	0.03	0.51	0.18	0.85	0.01	0.31	0.03	0.54	0.229 9	96
III 20-11	0.59	0.06	0.25	0.03	0.89	0.38	0.97	0.11	0.05	0.01	0.73	0.324 4	36
III 20-12	0.29	0.05	0.10	0.06	0.79	0.32	0.85	0.09	0.06	0.01	0.30	0.231 7	94
III 20-13	0.10	0.18	0.03	0.16	0.98	0.12	0.97	0.23	0.36	0.09	0.10	0.271 0	74
III 20-14	0.14	0.33	0.06	0.24	0.92	0.13	0.97	0.21	0.00	0.08	0.18	0.285 4	65
III 20-16	0.22	0.10	0.11	0.14	0.73	0.16	0.97	0.46	0.16	0.06	0.60	0.296 0	50
III 20-17	0.12	0.07	0.02	0.13	0.97	0.12	0.96	0.23	0.23	0.06	0.53	0.272 9	70
III 20-18	0.06	0.26	0.07	0.16	0.37	0.56	0.97	0.30	0.14	0.02	0.29	0.254 6	84
III 20-19	0.32	0.05	0.13	0.15	0.89	0.59	0.97	0.16	0.45	0.05	0.43	0.347 9	23
III 20-20	0.07	0.22	0.03	0.19	1.00	0.42	0.96	0.32	0.45	0.09	0.36	0.342 0	27
III 40-1	0.97	0.94	0.85	0.83	0.28	0.85	0.25	0.09	0.03	0.05	0.52	0.535 4	4
III 40-2	0.50	0.84	0.41	0.68	0.19	0.54	0.86	0.07	0.04	0.07	0.51	0.414 7	9
III 70-1	0.64	0.87	0.32	0.70	0.24	0.61	0.87	0.33	0.03	0.02	0.63	0.461 6	6
III 70-2	0.96	0.98	0.85	1.00	0.32	0.87	0.27	0.33	0.05	0.01	0.64	0.593 6	3
III 70-3	0.98	0.95	0.86	0.91	0.26	0.95	0.27	0.16	0.09	0.72	0.68	0.639 7	1
III 70-4	0.98	0.93	0.49	0.74	0.26	0.64	0.23	0.11	1.00	0.05	0.53	0.460 5	7
III 70-5	0.90	0.97	1.00	0.99	0.23	1.00	1.00	0.07	0.03	0.19	0.00	0.625 7	2
III 70-6	1.00	0.29	0.23	0.31	0.29	0.41	0.27	0.38	0.04	0.03	0.54	0.333 2	29

指标的灰色关联分析中显示生理生化指标对品种抗旱性的影响大于形态指标^[17];对谷子抗旱相关性状的主成分与模糊聚类分析表明,在干旱胁迫中以产量最为敏感^[18]。因此,本研究以三叶草苗期抗旱性相关的 11 个指标,利用隶属函数法、标准差赋予权重法得到抗旱性综合评价值(D 值)。由于 D 值即考虑了各指标间的相互关系,又考虑到各指标的重要性,根据 D 值的大小准确地评价出了三叶草海发 97 份诱变材料的抗旱性。诱变材料 III 40-1、III 70-2、III 70-3 和 III 70-5 的 D 值较大,属于极端耐旱材料; D 值介于 0.3~0.5 的 41 份诱变材料,属于耐旱性较好;其余 D 值低于 0.3 的诱变材料,属于耐旱性较差材料。该方法已在玉米^[19]和胡麻^[20]等作物上应用,取得了比较理想的结果。

植物抗旱性是一个复杂的生理过程,采用多指标的综合评价方法,其结果更加真实可靠。本研究分析了 21 d 干旱胁迫下三叶草海发 97 份诱变材料叶片的叶绿素、相对含水量、保水力、丙二醛、可溶性糖、脯氨酸和相对电导率的变化。结果显示,各材料的各项生理指标变化趋势基本一致,但是变化幅度不尽相同,其中叶片的叶绿素、相对含水量和保水力在干旱胁迫下呈现下降趋势,且抗旱性强的诱变材料比抗旱性弱的诱变材料下降幅度小,这与余玲等^[21]在不同品种紫花苜蓿的抗旱性研究结果一致。而丙二醛(MDA)、可溶性糖、脯氨酸和电导率总体呈现上升趋势,变化幅度与抗旱性密切相关,抗旱性强的诱变材料其 MDA 和电导率增幅小于抗旱性弱的诱变材料,说明 MDA 和电导率相对值与抗旱性呈负相关;而脯氨酸含量和可溶性糖相对值的增幅与诱变材料的抗旱性呈正相关,这与谢小玉等^[22]在油菜苗期的研究中结果一致,表明在低于干旱胁迫引起的伤害中它们发挥了十分重要的作用。

本研究仅对⁶⁰Co- γ 诱变白三叶海发品种耐旱突变体进行了初步的筛选,筛选获得的耐旱突变体由辐射当代的单株繁殖而来,能否稳定遗传,有待进一步的研究。

参考文献 References

[1] 金忠民,沙伟. 白三叶抗旱生理的研究[J]. 北方园艺, 2010(18):50-52
Jin Z M, Sha W. Study on drought resistance of *Trifolium repens* linn seedlings[J]. *Northren Horticulture*, 2010(18):50-52 (in Chinese)

[2] 马建中,鱼红斌,伊虎英. 关于牧草辐射育种几个问题的探讨[J]. 核农学报, 2000,14(3):167-17
Ma J Z, Yu H B, Yi H Y. A few questions on raeiation breeding for herbages[J]. *Agriculturae Nucleatae Sinica*, 2000, 14(3):167-17 (in Chinese)

[3] 李慧,石凤翎,熊梅,张璐,乌云塔娜. ⁶⁰Co- γ 辐射对直立型扁蓿豆种子产量及构成因子的影响[J]. 中国草地学报, 2013, 35(6):9-13
Li H, Shi F L, Xiong M, Zhang L, Wu Y T N. Effect of ⁶⁰Co- γ ray irradiation on seed yields and component factors of *Melilotoides ruthenicus* (L) Sojak cv Zhilixing[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2013, 35(6):9-13 (in Chinese)

[4] 杨红善,王彦荣,常根柱,周学辉,包文生. 牧草的航天诱变研究[J]. 中国草地学报, 2015, 37(1):104-110
Yang H S, Wang Y R, Chang G Z, Zhou X H, Bao W S. A study on the space mutation of forages[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2015, 37(1):104-110 (in Chinese)

[5] 张学云,杨丽,范金,王瑜,袁庆华. 紫花苜蓿体细胞胚的辐射诱变及耐盐性筛选[J]. 中国草地学报, 2015, 37(3):31-36
Zhang X Y, Yang L, Fan J, Wang Y, Yuan Q H. Radiation mutation of induced somatic embryogenesis of *Medicago sativa* L and selection for salt-tolerance [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2015, 37(3):31-36 (in Chinese)

[6] 韦祖生,李开绵. 作物诱变育种及突变体鉴定与筛选研究进展[J]. 江西农业学报, 2007, 19(10):38-41
Wei Z S, Li K M. Progress in crop mutation breeding and identification and screening og mutagenesis [J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2007, 19(10):38-41 (in Chinese)

[7] 乔广军. 诱变在我国亚麻育种及资源创新中的利用[J]. 中国麻业, 2006, 28(1):17-20
Qiao G J. Induced mutation application in flax breeding and germplasm innovation[J]. *Plant Fibers and Products*, 2006, 28(1):17-20 (in Chinese)

[8] 杨丽,张学云,王瑜,袁庆华. ⁶⁰Co- γ 辐照对白三叶愈伤组织的诱变育种[J]. 草地学报, 2015, 23(3):533-538
Yang L, Zhang X Y, Wang Y, Yuan Q H. The mutagenic effect ⁶⁰Co- γ radiation on white clover callus [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2015, 23(3):533-538 (in Chinese)

[9] Wilkinson S, Clephan A L, Davies W J. Rapid low temperature-induced stomatal closure occurs in c old-tolerant *Commelina communis* leaves but not in cold-sensitive tobacco leaves, via a mechanism that involves apoplastic calcium but abscisic acid[J]. *Plant Physiology*, 2001, 126(4):1566-1578

[10] 王守超,王得祥,彭少兵,何帆,余鸽,王小兰. 盐胁迫对木本滨藜植物细胞膜透性及生理特性的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2007(4):281-285
Wang S C, Wang D X, Peng S B, He F, Yu G, Wang X L. Effects of salt on cell membrane permeability and physiological property in woody saltbush[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2007(4):281-285 (in Chinese)

[11] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社, 2000

- Zhou Q. *Plant Physiological Experimental Instructs* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000 (in Chinese)
- [12] 李合生. 植物生理生化实验原理及技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002
- Li H S. *Plant Physiological and Biochemical Principles and Experimental Techniques* [M]. Beijing: Higher Education Press, 2002 (in Chinese)
- [13] Bates L S, Waldren R P, Teare I D. Rapid determination of free proline for water-stress studies[J]. *Plant Soil*, 1973, 39: 205-207
- [14] 邵艳军, 山伦. 植物耐旱机制研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2006, 14(4): 16-20
- Shao Y J, Shan L. Advance in the studies on drought tolerance mechanism of plants[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2006, 14(4): 16-20 (in Chinese)
- [15] 张智猛, 万书波, 戴良香, 宋文武, 陈静, 石运庆. 花生抗旱性鉴定指标的筛选与评价[J]. 植物生态学报, 2011, 35(1): 100-109
- Zhang Z M, Wan S B, Dai L X, Song W W, Chen J, Shi Y Q. Estimating and screening of drought resistance indexes of peanut[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2011, 35(1): 100-109 (in Chinese)
- [16] 祁旭升, 刘章雄, 关荣霞, 王兴荣, 苟作旺, 常汝镇, 邱丽娟. 大豆成株期抗旱性鉴定评价方法研究[L]. 作物学报, 2012, 38(4): 665-674
- Qi X S, Liu Z X, Guan R X, Wang X R, Gou Z W, Chang R Z, Qiu L J. Comparison of evaluation methods for drought-resistance at soybean adult stage[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2012, 38(4): 665-674 (in Chinese)
- [17] 王士强, 胡银岗, 余奎军, 周琳璘, 孟凡磊. 小麦抗旱相关农艺性状和生理生化性状的灰色关联度分析[J]. 中国农业科学, 2007, 40(11): 2452-2459
- Wang S Q, Hu Y G, Yu K J, Zhou L L, Meng F L. Gray relational grade analysis of agronomical and physi-biochemical traits related to drought tolerance in wheat [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(11): 2452-2459 (in Chinese)
- [18] 孟庆力, 关周博, 冯佰利, 柴岩, 胡银岗. 谷子抗旱相关形状的主成分与模糊聚类分析[J]. 中国农业科学, 2009, 42(8): 2667-2675
- Meng Q L, Guan Z B, Feng B L, Chai Y, Hu Y G. Principal component analysis and fuzzy clustering on drought-tolerance related traits of foxtail millet (*Setaria italica*) [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(8): 2667-2675 (in Chinese)
- [19] 何雪银, 文仁来, 吴翠荣, 周锦国. 模糊隶属函数法对玉米苗期抗旱性的分析[J]. 西南农业学报, 2008, 21(1): 52-56
- He X Y, Wen R L, Wu C R, Zhou J G. Analysis of maize drought resistance at seeding stage by fuzzy subordination method [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2008, 21(1): 52-56 (in Chinese)
- [20] 祁旭升, 王兴荣, 许军, 张建平, 米君. 胡麻种质资源成株期抗旱性评价[J]. 中国农业科学, 2010, 43(15): 3076-3087
- Qi X S, Wang S R, Xu J, Zhang J P, Mi J. Drought-resistance evaluation of flax germplasm at adult plant stage[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(15): 3076-3087 (in Chinese)
- [21] 余玲, 王彦荣, GARNET T Trevor, AURICHT Geoff, 韩德梁. 紫花苜蓿不同品种对干旱胁迫的生理响应[J]. 草业学报, 2006, 15(3): 75-85
- Yu L, Wang Y R, Garnet T T, Auricht G, Han D L. A study on physiological responses of varieties of *Medicago sativa* and their relationship with drought resistance capacity under drought stress[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2006, 15(3): 75-85 (in Chinese)
- [22] 谢小玉, 张霞, 张兵. 油菜苗期抗旱性评价及抗旱性相关指标变化分析[J]. 中国农业科学, 2013, 46(3): 476-485
- Xie X Y, Zhang X, Zhang B. Evaluation of drought resistance and analysis of variation of relevant parameters at seedling stage of rapeseed (*Brassica napus* L.) [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(3): 476-485 (in Chinese)

责任编辑: 吕晓梅